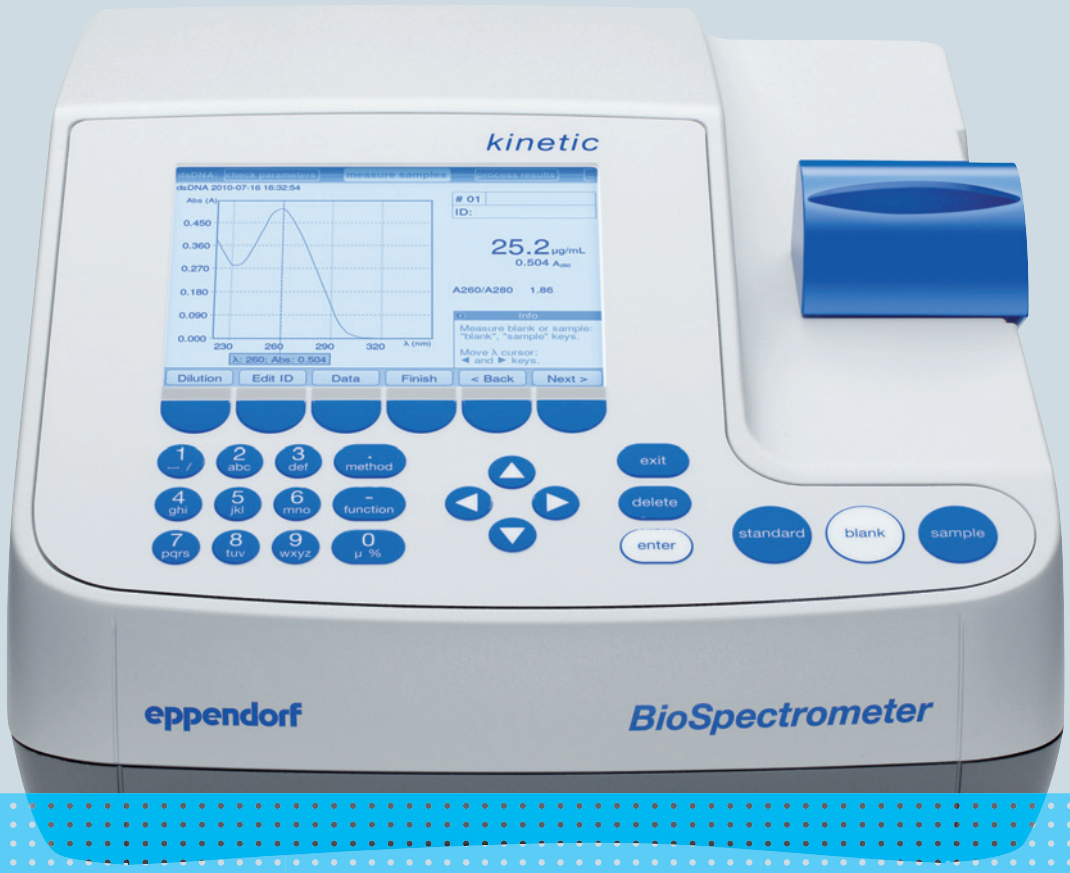
eppendorf

Register your instrument!
www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer® kinetic

Manuel d'utilisation

Copyright © 2015 Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

Trademarks

Cy® is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf SpectraZoom® and UVette® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with ® or ™ in this manual.

This product is manufactured under license to issued U.S. Patent No. 6,122,052.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

6136 900.054-04/062015

Sommaire

1 Notes d'application 7
1.1 Utilisation de ce manuel 7
1.2 Symboles de danger et niveaux de danger 7
1.2.1 Symboles de danger 7
1.2.2 Niveaux de danger 7
1.3 Convention de représentation 8
1.4 Abréviations 9

2 Consignes générales de sécurité 11
2.1 Utilisation appropriée 11
2.2 Exigences s'appliquant à l'utilisateur 11
2.3 Dangers résultant d'une utilisation appropriée 11
2.3.1 Dommage physique 11
2.3.2 Dommage matériel 13
2.4 Remarques sur la responsabilité du fabricant 15
2.5 Consignes de sécurité sur l'appareil 15

3 Désignation 17
3.1 Illustration d'ensemble 17
3.2 Pièces inclues dans la livraison 17
3.3 Caractéristiques du produit 18
3.3.1 Méthodes 18
3.3.2 Utilisation 18
3.3.3 Publication du résultat 18
3.3.4 Auto-test de l'appareil 18

4 Installation 19
4.1 Préparer l'installation 19
4.2 Sélectionner un emplacement 19
4.3 Branchement de l'appareil sur le secteur 19
4.4 Relier l'appareil à un réseau 20
4.5 Raccorder l'imprimante au port USB 20
4.5.1 Thermo-imprimante DPU-S445 20
4.6 Connexion d'un PC ou d'une clé USB pour l'exportation des données 21

5 Utilisation 23
5.1 Vue d'ensemble des commandes 23
5.1.1 Saisir du texte 25
5.2 Mise en place de la cuve 26
5.3 Vue d'ensemble d'un cycle de mesure 27
5.3.1 Préparation de la mesure 27
5.3.2 Cycle de mesure 27
5.3.3 Remarques importantes pour les mesures 31
5.3.4 Remarques sur les travaux réalisés avec un contrôle de la température de la cuve . . 32

6 Méthodes. 35
6.1 Sélection de la méthode 35
6.2 Description des méthodes utilisées en photométrie 36
6.2.1 Groupe de méthodes Absorbance 36
6.2.2 Groupe de méthodes Routine 37
6.2.3 Groupe de méthodes Basic 38
6.2.4 Groupe de méthodes Advanced 39
6.3 Paramètres des méthodes 40
6.4 Déroulement de la méthode 47
6.4.1 Dans l'étape Check parameters de la méthode, les paramètres généraux sont alors sélectionnés via les cases à cocher.48
6.4.2 measure standards 49
6.4.3 measure samples 50
6.4.4 measure samples: affichages du résultat 52
6.4.5 process results 59
6.4.6 process results: Options 61
6.4.7 print & export 65
6.4.8 Clôturer la série de mesures 68

7 Fonctions. 69
7.1 Fonctions du groupe principal User 69
7.1.1 Results memory 70
7.1.2 General method parameters 71
7.1.3 Absorbance spectra library 74
7.1.4 Device settings 74
7.1.5 Device calibration 77
7.1.6 Info 77

8 Entretien 79
8.1 Nettoyer 79
8.1.1 Nettoyage du couvercle du puits de la cuve 80
8.2 Désinfection/Décontamination 81
8.3 Contrôle de l'appareil 81
8.3.1 Contrôle de l'unité de spectrométrie 81
8.3.2 Contrôle de l'unité de thermostatisation 85
8.3.3 Auto-test de l'appareil 86
8.4 Changement de fusibles 86
8.5 Décontamination avant l'expédition 87

9 Résolution des problèmes 89
9.1 Pannes générales 89
9.2 Messages d'erreur 91
9.3 Repérage des résultats 96

10 Transport, stockage et mise au rebut 101
10.1 Transport 101
10.2 Stockage 101
10.3 Mise au rebut 102

11 Données techniques 103
11.1 Alimentation électrique 103
11.2 Conditions ambiantes 103
11.3 Poids/dimensions 103
11.4 Propriétés photométriques 104
11.5 Thermostatisation 104
11.6 Paramètres techniques supplémentaires 105
11.7 Paramètres d'application 106

12 Procédés d'évaluation 107
12.1 Valeurs d'absorbance 107
12.1.1 Blanc 107
12.1.2 Correction d'arrière-plan 107
12.1.3 Correction de la cuve 108
12.2 Évaluation avec facteur ou standard 109
12.3 Évaluation avec courbe / droite de standards 110
12.4 Dilution 111
12.5 Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV 111
12.5.1 Correction A_{260} et correction A_{280} 111
12.5.2 Rapport A260/A280 et rapport A260/A230 112
12.5.3 Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques 112
12.5.4 Calcul du facteur pour la protéine dans "General Method Parameter" 114
12.6 Procédures d'évaluation spéciales pour méthodes Dye 114
12.6.1 Calcul du facteur pour le colorant du coefficient d'extinction 114
12.6.2 Calcul de la FOI 115
12.6.3 Calcul des quantités de colorant 115
12.7 Dual wavelength 116
12.8 Cinétique 116
12.8.1 Procédure de mesure 116
12.8.2 Valeur témoin du réactif 117

13 Nomenclature de commande 119

Certificats 121

Sommaire
Eppendorf BioSpectrometer® kinetic
Français (FR)

1 Notes d'application

1.1 Utilisation de ce manuel

- Lisez intégralement le présent manuel d'utilisation avant de procéder à la première mise en service de l'appareil. Observez également les notices d'utilisation des accessoires.
- Ce manuel d'utilisation fait partie du produit. Conservez-le bien accessible.
- Lorsque vous remettez l'appareil à un tiers, pensez toujours à joindre le manuel d'utilisation.
- La version actuelle du manuel d'utilisation est disponible dans d'autres langues sur notre site Internet www.eppendorf.com.

1.2 Symboles de danger et niveaux de danger

Les consignes de sécurité de ce manuel contiennent les symboles de danger et de niveaux de danger suivants :

1.2.1 Symboles de danger

	Électrocution		**Risque d'explosion**
	Substances toxiques		**Zone dangereuse**
	Dommages matériels		

1.2.2 Niveaux de danger

DANGER	*Va* entraîner des blessures graves ou la mort.
AVERTISSEMENT	*Peut* entraîner des blessures graves ou la mort.
ATTENTION	Peut causer des blessures de légère à moyenne gravité.
AVIS	Peut entraîner des dommages matériels.

1.3 Convention de représentation

Représentation	Signification
1. 2.	Actions dans l'ordre indiqué
▸	Actions sans ordre indiqué
•	Liste
 ou **sample**	Actionnez cette touche pour procéder à la manipulation décrite.
 ou [Copy]	Actionnez cette touche programmable pour procéder à la manipulation décrite.
	Informations supplémentaires

1.4 Abréviations

A
Absorbance – Extinction

DNA
Deoxyribonucleic acid – acide désoxyribonucléique (ADN)

dsDNA
double stranded DNA – ADN à double brin

Applications Dye
Méthodes du groupe **Dye labels** pour la mesure de biomolécules marquées au colorant

FOI
Frequency of Incorporation: Quantité de molécules de colorants exprimée par rapport au nombre de nucléotides contenu dans les biomolécules marquées au colorant

M
mol/l (*molaire*)

OD600
Densité optique à une longueur d'onde de 600 nm

RNA
Ribonucleic acid – Acide ribonucléique (ARN)

ssDNA
single stranded DNA – ADN simple brin

UV
Rayon ultraviolet

Vis
Visible light – lumière visible

VK
Coefficient de variation (écart standard / valeur médiane), exprimé en pourcentage

2 Consignes générales de sécurité

2.1 Utilisation appropriée

Le BioSpectrometer kinetic est spécifié pour les laboratoires de recherche spécialisés en biologie moléculaire, biochimie et biologie cellulaire. Le BioSpectrometer kinetic a été conçu uniquement pour les applications réalisées à l'intérieur. Respectez les directives nationales et locales sur la sécurité des appareils électriques utilisés en laboratoire.

Le BioSpectrometer kinetic permet de déterminer la concentration photométrique des analytes liquides et d'enregistrer les spectres de longueurs d'onde d'absorbance des cuves.

N' utilisez que des accessoires et des pièces de rechange authentiques, recommandés par Eppendorf.

2.2 Exigences s'appliquant à l'utilisateur

L'appareil et les accessoires ne doivent être utilisés que par un personnel spécialisé formé.

Avant l'utilisation, lisez soigneusement le manuel d'utilisation et la notice d'utilisation des accessoires et familiarisez-vous avec le mode de fonctionnement de l'appareil.

2.3 Dangers résultant d'une utilisation appropriée

2.3.1 Dommage physique

DANGER ! Électrocution à cause de liquides pénétrant dans l'intérieur.

- Déclenchez l'appareil et séparez-le du secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
- Ne pas laisser pénétrer des liquides dans l'intérieur du boîtier.
- Ne pas nettoyer le boîtier avec du spray nettoyant ou du spray désinfectant.
- Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.

DANGER ! Risque d'explosion.

- Ne pas utiliser l'appareil dans des pièces où l'on travaille avec des substances explosibles.
- Ne pas utiliser cet appareil pour modifier des substances explosives ou à forte réaction.
- Ne pas utiliser cet appareil pour modifier des substances qui pourraient engendrer une atmosphère explosive.

AVERTISSEMENT ! Électrocution à cause de dommages à l'appareil ou au câble secteur.

- Enclenchez l'appareil seulement si l'appareil et le câble secteur ne sont pas endommagés.
- Mettez en marche seulement des appareils qui ont été installés ou réparés de manière appropriée.
- En cas de danger, déconnectez l'appareil de la tension du courant en débranchant la fiche secteur de l'appareil ou de la prise secteur ou à l'aide du dispositif de déconnexion prévu (p. ex. interrupteur d'arrêt d'urgence au laboratoire).

AVERTISSEMENT ! Dommages causés par un rayonnement UV.
Les cuves en microlitres comme p.ex. Hellma® TrayCell (ou les cuves en microlitres de type similaire) dévient le rayonnement de la source lumineuse à l'intérieur de la cuve, de manière à ce que la source lumineuse puisse s'échapper par le haut lorsque le couvercle n'est pas fermé.

- Avant de démarrer une mesure, assurez-vous que le couvercle est bien placé sur la cuve en microlitres.

AVERTISSEMENT ! Dangers pour la santé à cause de produits chimiques toxiques, radioactifs ou agressifs ainsi que de liquides infectieux et de germes pathogènes.

- Observez les directives nationales relatives au maniement de ces substances, le niveau de sécurité biologique de votre laboratoire ainsi que les fiches de données de sécurité et les modes d'emploi des fabricants.
- Porter votre équipement de protection individuelle.
- Pour des spécifications plus détaillées par rapport au maniement de germes ou du matériel du groupe de risque II ou plus élevé, veuillez voir le manuel "Laboratory Biosafety Manual" (source : World Health Organization, Laboratory Biosafety Manual, la version actuelle respectivement valable).

AVERTISSEMENT ! Dangers pour la santé à cause d'appareil et d'accessoires contaminés.

- Décontaminez l'appareil et les accessoires avant de les stocker ou de les envoyer.

ATTENTION ! Défauts de sécurité à cause de pièces de rechange et d'accessoires incorrects.
Des accessoires et des pièces de rechange qui n'ont pas été recommandés par Eppendorf portent atteinte à la sécurité, au fonctionnement et à la fidélité de l'appareil. Eppendorf décline toute garantie et responsabilité des dommages causés par des pièces de rechange et des accessoires non recommandés ou par une utilisation inappropriée.

- Utilisez seulement des accessoires recommandés par Eppendorf et des pièces de rechange d'origine.

2.3.2 Dommage matériel

AVIS ! Dommages à cause de produits chimiques agressifs.

- Ne pas utiliser de produits chimiques agressifs avec l'appareil et ses accessoires comme p. ex. des bases fortes et faibles, des acides forts, de l'acétone, du formaldéhyde, des hydrocarbures halogénés ou du phénol.
- Si l'appareil est contaminé par des produits chimiques agressifs, nettoyez-le immédiatement avec un détergent neutre.

AVIS ! Dommage matériel par suite à une fumigation avec des produits chimiques agressifs.

- Ne pas désinfecter l'appareil par fumigation.

AVIS ! Corrosion à cause de détergents et de désinfectants agressifs.

- Ne pas utiliser ni de détergents caustiques ni de dissolvants agressifs ni de produits de polissage abrasifs.
- Ne pas incuber les accessoires longtemps dans des détergents ou désinfectants agressifs.

AVIS ! Dommages et mesures erronées provoqués par la présence d'eau de condensation.
Lorsque l'humidité de l'air est importante, et que la température d'une cuve est nettement inférieure à la température ambiante, il peut s'y former de l'eau de condensation. La présence d'eau de condensation peut endommager l'optique et entraîner des résultats de mesure erronés.

- Ne positionnez pas dans un puits de cuve dont la température est nettement inférieure à la température ambiante.
- Ne thermostatisez pas la cuve de manière durable à une température nettement inférieure à la température ambiante.
- Observez le cas échéant le point de rosée présent.

AVIS ! Dommages aux composants électroniques dus à la formation de condensation.
Après avoir transporté l'appareil d'un environnement froid dans un environnement plus chaud, il se peut que du condensat se forme dans l'appareil.

- Après avoir déposé l'appareil, attendez au moins pendant 3 h. Branchez l'appareil au secteur seulement après.

AVIS ! Fonction entravée par des dommages mécaniques.

- Après un endommagement mécanique de l'appareil, assurez-vous par le biais d'un contrôle que les fonctions de mesure et d'évaluation de l'appareil fonctionnent correctement.

AVIS ! Dommages à cause de surchauffe.

- Ne pas installer l'appareil près de sources de chaleur (p. ex. chauffages, étuves).
- Ne pas exposer l'appareil directement au soleil.
- Garantir une circulation d'air libre. Ne pas encombrer l'espace autour des grilles d'aération à une distance minimale de 5 cm.

AVIS ! Dommages matériels à cause d'une utilisation incorrecte.

- Utilisez le produit seulement pour une utilisation appropriée comme décrite dans le manuel d'utilisation.
- Lors de l'utilisation de substances chimiques, veillez à une résistance suffisante des matériaux.
- En cas de doute, contactez le fabricant de ce produit.

AVIS ! Dommages à cause d'emballages inappropriés.
Eppendorf AG n'est pas responsable de dommages à cause d'emballages inappropriés.

- Pour stocker et transporter l'appareil, utilisez seulement l'emballage d'origine.

AVIS ! Dommages liés à un nettoyage incorrect du puits de cuve.

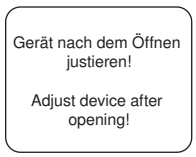
- Nettoyez le puits de cuve uniquement avec du coton imbibé .(voir *Nettoyer à la page 79)*
- Ne laissez pénétrer aucun liquide à l'intérieur du puits de cuve.
- N'introduisez pas le doigt à l'intérieur du puits de cuve.

2.4 Remarques sur la responsabilité du fabricant

Dans les cas suivants, la garantie de protection de l'appareil peut être affectée. L'exploitant est responsable des dommages matériels et des blessures engendrés :

- L'appareil n'est pas utilisé conformément au manuel d'utilisation.
- L'appareil est utilisé de manière non conforme.
- L'appareil est utilisé avec des accessoires ou des consommables non recommandés par Eppendorf.
- La maintenance ou les réparations sont effectuées par des personnes non autorisées par Eppendorf.
- L'utilisateur effectue des modifications non autorisées sur l'appareil.

2.5 Consignes de sécurité sur l'appareil

Représentation	**Signification**	**Emplacement**
	Zone dangereuse ▸ Respectez le manuel d'utilisation.	Verso de l'appareil
	Si l'appareil est ouvert, vous devez le réajuster. ▸ Ne pas ouvrir l'appareil.	Bas de l'appareil

3 Désignation

3.1 Illustration d'ensemble

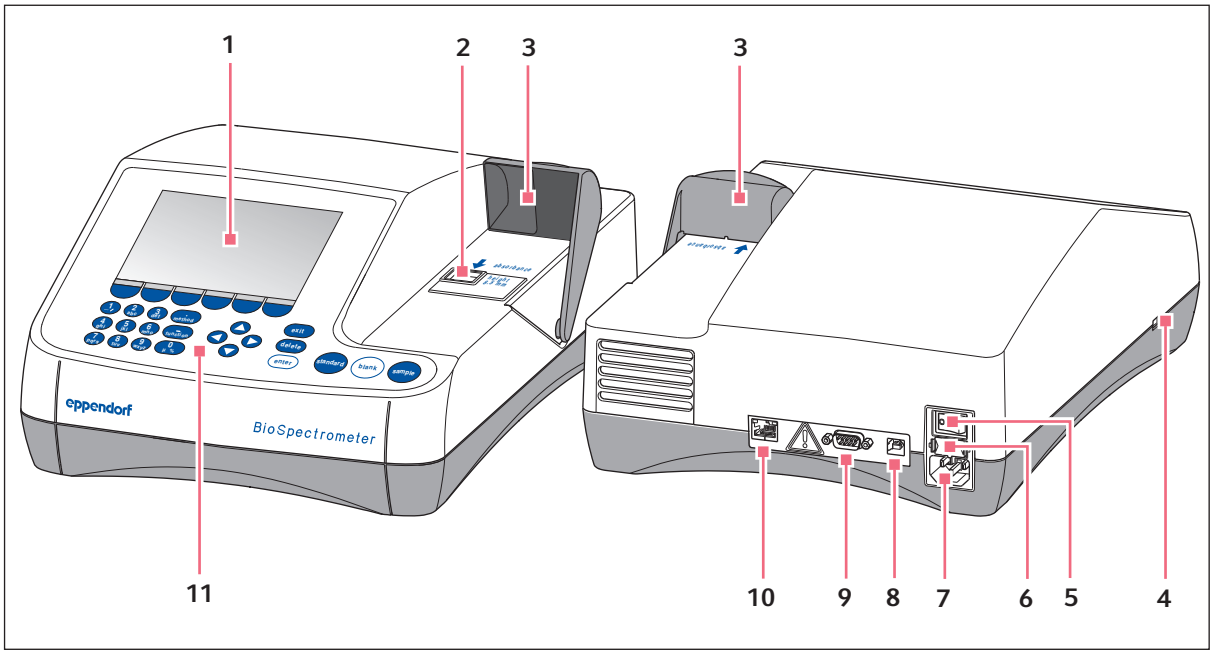


Fig. 3-1: Vue avant et arrière

1 Ecran
2 Puits de cuve
3 Cache du puits de cuve
4 Port USB pour clé USB et imprimante
5 Interrupteur général
6 Porte-fusibles
7 Branchement sur le secteur
8 Port USB pour PC
9 Port RS-232 de l'imprimante
10 Prise de raccordement Ethernet
11 Commandes

La plaque d'identification se trouve à l'arrière gauche, sur l'envers de l'appareil.

3.2 Pièces inclues dans la livraison

Nbre de	Description
1	**BioSpectrometer kinetic**
1	**Câble secteur**
4	**4 UVettes** Cuve en plastique authentique Eppendorf, emballage individuel, PCR clean, Protein-free
1	**Manuel d'utilisation, plurilingues**

3.3 Caractéristiques du produit

Le BioSpectrometer kinetic est un spectrophotomètre UV-VIS pour la mesure de liquides dans des cuves sur la plage de longueurs d'onde allant de 200 nm à 830 nm. Il est destiné au développement et à la recherche dans les domaines de la biologie moléculaire, biotechnologique, biochimique et cellulaire. Il est spécifié pour des cuves en verre et en plastique d'un volume de 1 µL à 3000 µL.

3.3.1 Méthodes

De nombreuses méthodes de détermination des concentrations d'acides nucléiques, protéines, et acides nucléiques et protéines marqués par colorant ainsi que la méthode **OD 600** de détermination de la densité bactérienne par la mesure de l'opacité sont déjà préprogrammées. Des modèles de méthode pour différents procédés de mesure et d'évaluation (mesures d'une et plusieurs longueurs d'onde, enregistrements de spectres, procédés cinétiques, évaluations avec facteur, standard et courbe standard) sont également préprogrammés. Des méthodes personnalisées peuvent être créées à partir des méthodes et modèles préprogrammés. Avec les modèles du groupe de méthodes ***Absorbance***, vous pouvez mesurer rapidement des extinctions ou des spectres sans évaluation supplémentaire.

3.3.2 Utilisation

Les méthodes et modèles préprogrammés sont regroupés par groupes, vous permettant de faire une sélection rapide de la méthode souhaitée. Une fois que vous avez appelé la méthode, vous êtes guidé étape par étape à travers le cycle de mesure. En cas de besoin, des conseils peuvent être affichés dans une fenêtre d'aide. Les 3 touches de mesure rondes (**standard**, **blanc**, **échantillon**) permettent un démarrage rapide et direct de la mesure.

3.3.3 Publication du résultat

Le BioSpectrometer kinetic délivre les résultats à l'écran ou sur une imprimante disponible auprès d'Eppendorf. Vous pouvez transférer les données de résultats de l'appareil au moyen de la connexion USB sur une clé USB, une imprimante ou directement sur votre PC.Si l'appareil est relié à un réseau, les résultats peuvent être imprimés sur une imprimante réseau ou envoyés par courriel. Il n'est pas possible de sauvegarder les résultats sur un disque réseau.

3.3.4 Auto-test de l'appareil

Directement après la mise en marche, l'appareil contrôle automatiquement le fonctionnement du module de spectrométrie et du module thermique. Pour procéder à un contrôle complet de l'appareil, utilisez la fonction **Device calibration** (voir *Auto-test de l'appareil à la page 86)*.

4 Installation

4.1 Préparer l'installation

- Conservez l'emballage et le matériau d'emballage en vue d'un transport ultérieur ou d'un stockage.
- A l'aide de la liste jointe à la livraison, vérifiez qu'il ne manque rien (voir *Pièces inclues dans la livraison à la page 17)*.
- Vérifiez que les pièces de l'appareil n'ont pas été endommagées lors du transport.

4.2 Sélectionner un emplacement

Sélectionnez un site approprié pour le BioSpectrometer kinetic en tenant compte des critères suivants:

- 2 prises avec terre pour le BioSpectrometer kinetic et pour l'imprimante.
- Paillasse fixe avec plan de travail horizontal.
  Dimensions de l'appareil : largeur 50 cm (avec imprimante : 75 cm), profondeur 50 cm.
- Température : de 15 °C à 35 °C.
- Evitez les écarts de température (par ex. fenêtre ouverte).
- Évitez toute exposition directe au soleil.
- Humidité de l'air : humidité relative comprise entre 25 % et 70 %.

Veillez à ne déposer aucun objet sous l'appareil (par ex. feuilles détachées, cahiers) susceptibles de gêner le flux d'air.

4.3 Branchement de l'appareil sur le secteur

1. Déposez le BioSpectrometer kinetic sur une surface de travail adaptée.
2. Assurez-vous que la tension du courant et la fréquence du courant correspondent aux indications de la plaque signalétique.
3. Branchez l'appareil au réseau électrique et allumez-le avec l'interrupteur général.
4. Retirez le film de protection de l'affichage.

4.4 Relier l'appareil à un réseau

La connexion de l'appareil à un réseau est facultative. Vous pouvez également utiliser l'appareil sans connexion au réseau.
Informations sur les paramètres du réseau(voir *Device settings à la page 74)*

Prérequis

Câble Ethernet (RJ45)

1. Raccordez le câble Ethernet à la prise de raccordement réseau.
2. Raccordez le câble Ethernet à la prise de raccordement Ethernet **10** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.

Imprimante réseau
Une imprimante réseau est détectée automatiquement par l'appareil dans les conditions suivantes :
- L'imprimante se trouve sur le même segment de réseau que l'appareil.
- L'imprimante prend en charge le protocole Zeroconf.
- L'imprimante peut traiter le PostScript.

4.5 Raccorder l'imprimante au port USB

4.5.1 Thermo-imprimante DPU-S445

Prérequis

L'appareil est équipé de la version du logiciel 3.4.4.0 ou plus.

L'imprimante thermique DPU-S445 est sélectionnée dans les paramètres d'imprimante(voir *Device settings à la page 74)*.

Connectez la thermo-imprimante DPU-S445 au port USB de l'imprimante.

1. Reliez le câble de l'imprimante au port USB de l'imprimante **4** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.
2. Reliez le câble de l'imprimante à l'imprimante.
3. Connectez l'imprimante au secteur à l'aide du bloc d'alimentation et du câble secteur fourni (accessoires de l'imprimante) et enclenchez-la.

   Pour en savoir plus, veuillez consulter le manuel d'utilisation de l'imprimante.

4.6 Connexion d'un PC ou d'une clé USB pour l'exportation des données

Vous pouvez connecter une clé USB, **format FAT-32**, au port USB **4** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.

Vous pouvez également connecter directement l'appareil à un PC au moyen d'un câble USB pour exporter les données :

Prérequis

- PC avec Windows, version XP, SP2 ou une version supérieure.
- Câbles USB avec chacun une prise de type A et une prise de type B.

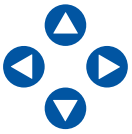
▸ Connectez directement l'appareil à un PC au moyen d'un câble USB au niveau du port USB **8** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.

- Vous n'avez besoin d'aucun logiciel PC particulier pour le transfert des données : les paquets de données transférés sont reconnus par le PC de la même manière qu'une clé USB, comme un support de données amovible. Pour visionner les données, il vous suffit d'ouvrir le paquet de données annoncé.
- Le transfert de données sur une clé USB ou sur le PC se fait une fois la série de mesures terminée, à l'étape de l'application **print & export** (voir *print & export à la page 65)*.

5 Utilisation

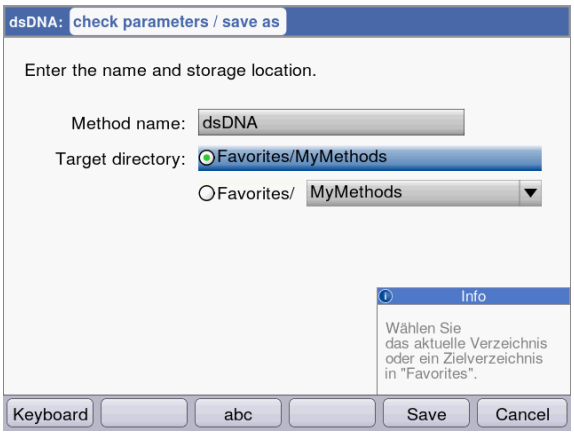
5.1 Vue d’ensemble des commandes

Fig. 5-1: Commandes duBioSpectrometer kinetic

Touche	Fonction
	Clavier : entrée de texte et de chiffres. Touches **1** à **9** et **0** : Vous pouvez entrer des chiffres, des lettres et des symboles en appuyant plusieurs fois sur la touche. Vous pouvez également faire apparaître un clavier en appuyant sur [Keyboard].
 	En dehors des zones d'entrée : appelez la sélection d'applications. En dehors des zones d'entrée : appelez la sélection de fonctions.
	Touche programmable : sélectionnez les fonctions. L'affectation des touches change avec le dialogue du logiciel. La fonction actuelle est indiquée sur l'affichage juste au-dessus de la touche.
	Déplacer le curseur vers la gauche, la droite, le haut, le bas. • Naviguer entre les champs de saisie. • Touches curseur ◀ et ▶ dans une zone d'entrée : naviguer dans la séquence de caractères. • Touches ▲ et ▼ dans l'affichage des résultats : naviguer entre les résultats de la série de mesures. • Touches ◀ et ▶ dans un graphique : naviguer dans l'axe X du graphique pour afficher par ex. la valeurs d'absorbance d'un balayage déterminées à partir d'une longueur d'onde définie.
   	Quitter la sélection actuelle pour le niveau juste au-dessus. Supprimer l'entrée. À l'intérieur d'une chaîne de caractères, le caractère situé à gauche du curseur est effacé • Appeler l'application ou la fonction sélectionnée. • Ouvrir la liste de sélection. • Confirmer la saisie ou la sélection.
   	Démarrer la mesure standard. Démarrer la mesure témoin. Démarrage d'une mesure d'échantillon.

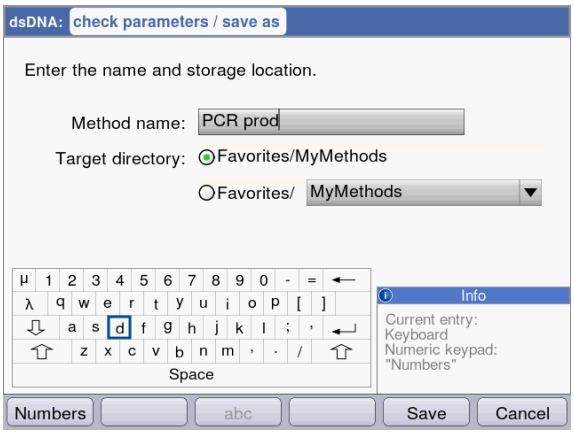
5.1.1 Saisir du texte

Vous pouvez saisir du texte lors de l'attribution des noms d'application et des unités de mesure des résultats. Attention : Les noms des méthodes ne doivent contenir que des chiffres et des lettres, ainsi que le tiret bas "_".



Saisie avec le bloc de touches :
Vous pouvez naviguer dans le champ de saisie et modifier des positions dans le nom avec les touches curseur ◀ et ▶.
Touches programmables :

- [Keyboard]: afficher le clavier.
- [abc]: passer des lettres majuscules aux lettres minuscules. Ne concerne que les entrées faites sur le clavier.
- [Save]: enregistrer le texte entré.
- [Cancel]: abandonner l'entrée.



Saisie avec le clavier affiché :
Vous sélectionnez les caractères affichés avec les touches curseur, et confirmez à chaque fois avec la touche **enter**. Comme sur un clavier PC, vous pouvez choisir entre majuscule et minuscule pour votre ou vos prochaine(s) saisie(s) en appuyant sur la touche "Shift", ou la touche de blocage.
Touches programmables :

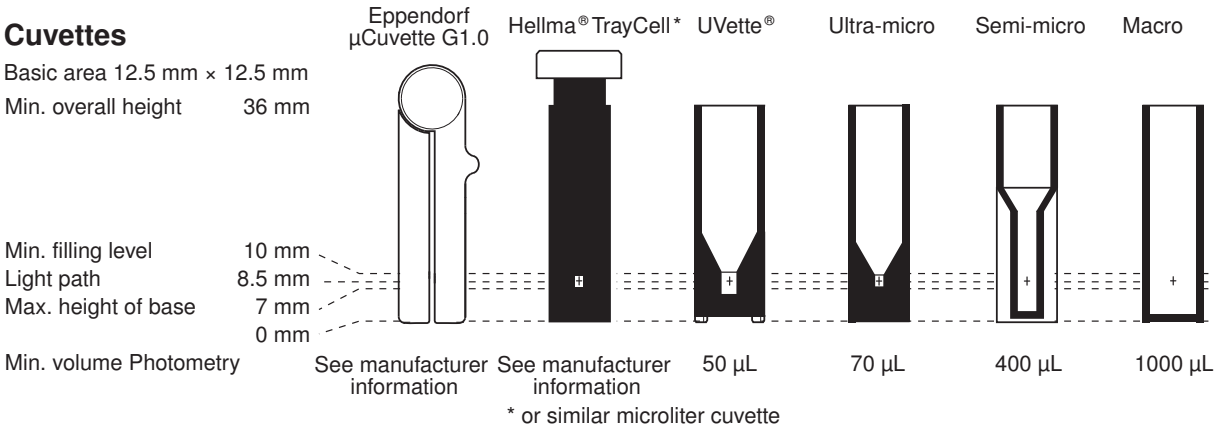
- [Numbers]: passer aux entrées effectuées sur le clavier.
- [Save]: enregistrer le texte saisi.
- [Cancel]: abandonner l'entrée.

5.2 Mise en place de la cuve

Des cuves rectangulaires usuelles en verre ou en plastique peuvent être mises en place dans le support de cuve :

- Dimensions externes : 12,5 mm × 12,5 mm
- Hauteur du trajet optique : 8,5 mm au-dessus du fond de la cuve
- Hauteur totale : au moins 36 mm

Les cuves doivent être optiquement transparentes à la longueur d'onde de mesure respective. Pour les mesures dans la plage UV, Eppendorf propose avec l'UVette une cuve en plastique transparente à partir de longueurs d'onde de 220 nm, et donc également adaptée à la mesure des acides nucléiques.



Prérequis

- La cuve ne présente ni poussière, ni trace de doigt. Elle n'est pas rayée.
- Le puits de la cuve ne contient ni particule, ni poussière, ni liquide.
- Le volume de la cuve est suffisant. Tenir compte du volume de mesure minimum.
- La solution utilisée pour les mesures ne contient ni particule ni bulle.

La direction du faisceau lumineux est indiquée sur le boîtier par une flèche.

1. Positionnez la cuve de manière à ce que la fenêtre ouverte soit orientée dans le sens du faisceau lumineux.
2. Pour la mise en place, exercez une légère pression sur la cuve jusque tout en bas.

5.3 Vue d'ensemble d'un cycle de mesure

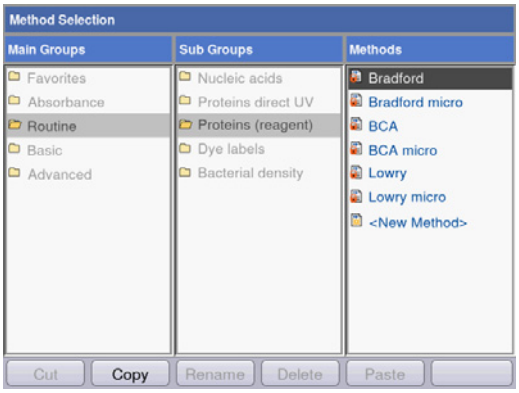
5.3.1 Préparation de la mesure

1. Allumez l'appareil et, le cas échéant, l'imprimante.
   L'appareil effectue un auto-test (durée d'env. 1 minute) et affiche la sélection d'applications.
2. Mettez en place les cuves pour les mesures (voir *Mise en place de la cuve à la page 26)*.
3. Préparez les solutions de mesure pour les mesures des valeurs témoins, ou des standards et des échantillons.
4. Ouvrez le couvercle de protection du puits de la cuve. Pendant les mesures, le couvercle de protection peut rester ouvert.

Ne pas utiliser de solutions de mesure pour les standards ni d'échantillons d'extinction inférieure à 0,05 A. Le seuil de détection de l'appareil est certes bien inférieur, mais l'influence des interférences contenues dans les solutions de mesure (particules, bulles, troubles) sur la fiabilité du résultat être très importante à ces niveaux d'extinctions faibles. Vous trouverez d'autres informations comme par exemple le guide de l'utilisateur n° 013 sur notre site www.eppendorf.com.

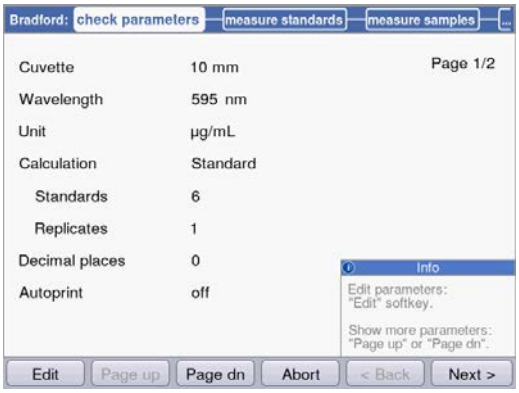
5.3.2 Cycle de mesure

5.3.2.1 Sélection de la méthode



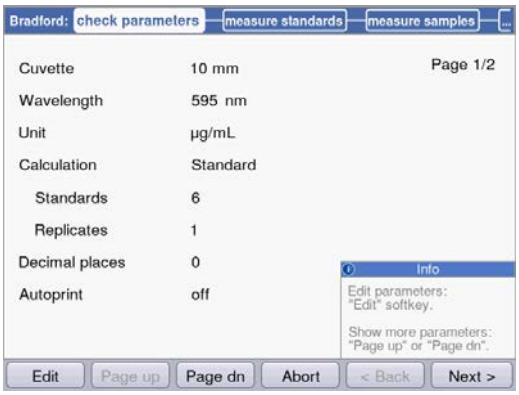
- Sélectionnez l'application souhaitée avec les touches curseur et appelez l'application avec la touche **enter**.

Vous pourrez trouver une vue d'ensemble et une désignation détaillée des applications dans le chapitre suivant (voir *Méthodes à la page 35)*.



Wizard : Le wizard placé en haut de l'affichage vous guide à travers l'application.
Fenêtre d'aide : A chaque étape de la mesure, vous trouverez des textes d'aide en bas, à droite de l'écran.
Touches programmables : Les touches programmables [< Back] (retour) et [Next >] (suivant) vous permettent d'aller dans le wizard à l'étape précédente ou suivante.

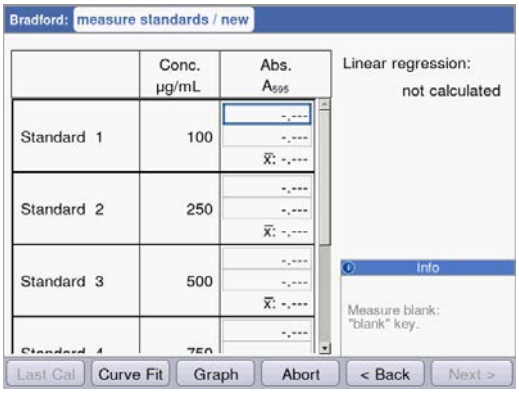
5.3.2.2 Contrôler les paramètres



- Contrôlez le paramétrage. Vous appelez les pages de la liste des paramètres avec les touches programmables [Page dn] et [Page up]. Avec [Edit], vous modifiez et enregistrez les paramètres.

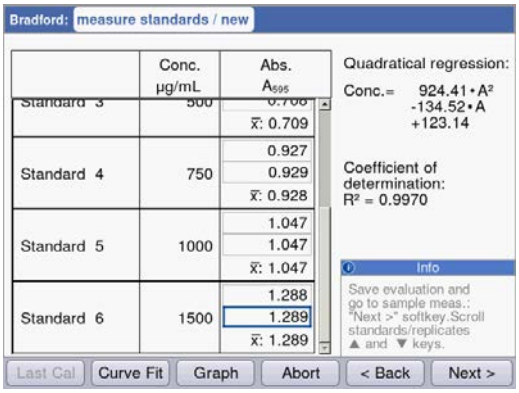
5.3.2.3 Mesurer le blanc et les standards

Cette étape de l'application est supprimée en cas d'évaluation sans standards (p.ex. mesures ADN).



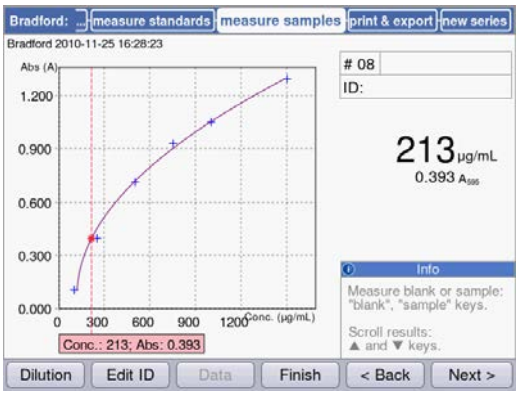
1. Mesurez d'abord une valeur témoin (touche **blanc**).
2. Mesurez les uns après les autres tous les standards (touche **standard**).

Dans l'affichage, le prochain standard à mesurer est surligné. Avec les touches programmables [Graph] et [Table], vous pouvez changer l'affichage des résultats.



- Avec [Next], vous acceptez l'évaluation calculée à partir des résultats standards.

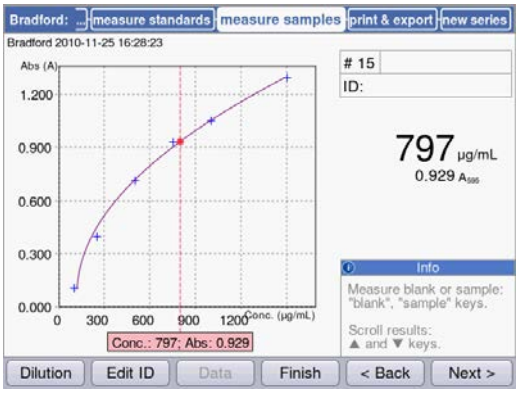
5.3.2.4 Mesure des échantillons



- Avec la touche **sample**, vous mesurez vos échantillons les uns après les autres.

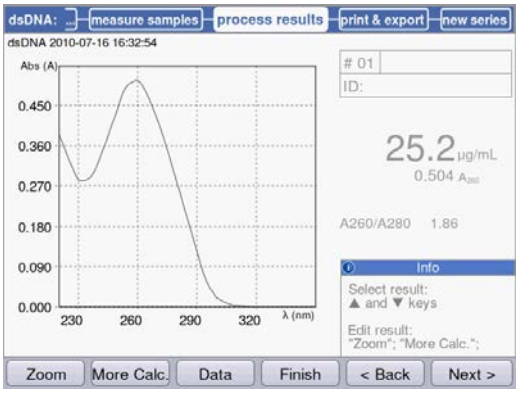
Les résultats des valeurs témoins restent enregistrés pour une série de mesures. Une nouvelle mesure de valeur témoin est possible à tout moment.(Dans l'illustration représentée ici d'un cycle de mesure avec évaluation par courbe standard, le graphique de l'évaluation standard est affiché en plus du résultat des échantillons.)

5.3.2.5 Terminer l'application



1. Appuyez sur [Finish] pour terminer la série de mesures et retourner à la sélection d'application.
2. Une fois toutes les mesures terminées, éteignez l'appareil et fermez le couvercle de protection du puits de la cuve afin de protéger le puits de la poussière.

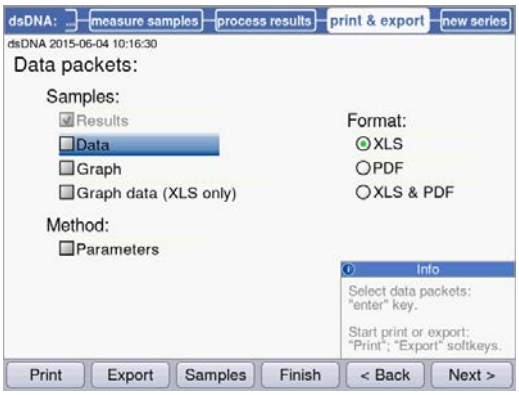
5.3.2.6 En option : Corriger les résultats



Pour certaines applications, vous pouvez corriger les résultats au cours de l'étape **process results** de l'application. Vous pouvez par exemple utiliser la fonction de zoom **SpectraZoom** dans les spectres.

- Sélectionnez les résultats de la série de mesures que vous souhaitez corriger avec les touches curseur ▲ et ▼.

5.3.2.7 Imprimer et exporter



1. Compilez les paquets de données pour tous les échantillons ou pour des échantillons sélectionnés.
2. Imprimez les données, enregistrez-les sur une clé USB, transférez-les sur un PC par câble USB ou exportez-les par e-mail.

5.3.3 Remarques importantes pour les mesures

À observer lors de chaque mesure :

- Pour les cuves en plastique : combien de mesures peuvent être réalisées successivement et en toute fiabilité dans la cuve ?
- Avant les mesures d'échantillons ou standards, mesurez la valeur témoin de la cuve afin de compenser la valeur témoin de la cuve en plus de la valeur témoin du réactif.
- Les résultats de la valeur témoin restent enregistrés pour une série de mesures, mais une nouvelle mesure de la valeur témoin est possible à tout moment entre les mesures des échantillons.
- Les valeurs d'absorbance affichées correspondent toujours aux valeurs directement mesurées. Le facteur de dilution ou le facteur de cuve, ainsi que les extinctions background sont pris en considération uniquement au moment du calcul final du résultat(voir *Valeurs d'absorbance à la page 107)*.
- La durée moyenne entre le début d'une mesure et l'affichage de son résultat est d'environ 2 à 3 secondes. Si peu de lumière atteint le récepteur (lorsque les valeurs d'absorbance sont élevées), il est possible de prolonger la mesure pour atteindre une durée de 9 secondes, afin d'augmenter la fidélité de la mesure. Pour les mesures cinétiques, cette prolongation du temps de mesure n'est pas utilisée afin de prévenir tout conflit entre l'intervalle de temps préprogrammé pour l'enregistrement du point de mesure.
- Veillez à ce que les valeurs d'absorbance ne dépassent pas la limite supérieure de la plage de mesure photométrique. Si c'est le cas, rejetez le résultat de la mesure. La limite supérieure de la plage de mesure photométrique ne dépend pas uniquement de la longueur d'onde (voir *Propriétés photométriques à la page 104)*, mais également de la valeur témoin de la cuve. Les ultramicrocuves munies d'un petit diaphragme comme **TrayCell** (Hellma) peuvent avoir une valeur témoin d'env. A = 1. La plage de mesure photométrique disponible est réduite de cette valeur. Vous pouvez estimer la valeur témoin de la cuve en mesurant la cuve remplie d'eau déminéralisée en tant qu'échantillon contre le puits de cuve vide en tant que blanc. La valeur témoin de la cuve de la Eppendorf µCuvette G1.0 doit être négligée (proche de A = 0).
- Après la mesure, éliminez entièrement la solution de mesure avant de verser la nouvelle solution de mesure afin de limiter le volume de liquide résiduel. Si en raison d'importantes différences de concentration, on peut s'attendre à un volume de liquide résiduel entre un échantillon et le suivant, rincez la cuve entre les mesures.
- Une dérive photométrique peut apparaître en cas de différences de température entre la lampe et l'environnement. Un appareil venant d'un environnement plus froid doit donc être d'abord ramené à température ambiante.
  Évitez les brusques variations de température. Si vous avez de grandes séries de mesure ou désirez refaire les mesures après un certain temps, remesurez la valeur témoin.

5.3.4 Remarques sur les travaux réalisés avec un contrôle de la température de la cuve

La thermostatisation est régulée par l'intermédiaire d'une mesure au niveau du porte-cuve. La température de la solution de mesure peut diverger de celle du porte-cuve.

L'importance de l'écart est fonction du volume à mesurer, du matériau et de la forme des cuves et de la température ambiante. La vitesse de thermostatisation dépend également de ces facteurs. Les cuves en plastique sont thermostatisées plus lentement que les cuves en verre. La surface de la cuve en contact direct avec la paroi du porte-cuve devrait être la plus grande possible pour obtenir une thermostatisation rapide. C'est pourquoi, les demi-microcuves en plastique et par ex. la UVette sont thermostatisées lentement.

Pour vous aider, les valeurs typiques mesurées par Eppendorf pour la thermostatisation des cuves fermées avec couvercle de protection du puits de cuve fermé sont indiquées dans les tableaux suivants. La température a été mesurée dans la solution utilisée pour les mesures ; la température ambiante était de 24,5 °C.

Tab. 5-1: Température à régler pour la thermostatisation d'une solution de mesure

Type de cuve/volume de mesure	**Température cible**	**Température à régler dans les paramètres de l'application**
Cuve macro en verre quartzeux 1 500 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Cuve macro en plastique 1 000 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Cuve mi-micro en verre quartzeux 500 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Cuve ultra-micro en verre quartzeux 60 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,3 °C
	37 °C	37,6 °C

Tab. 5-2: Durée de thermostatisation d'une solution de mesure

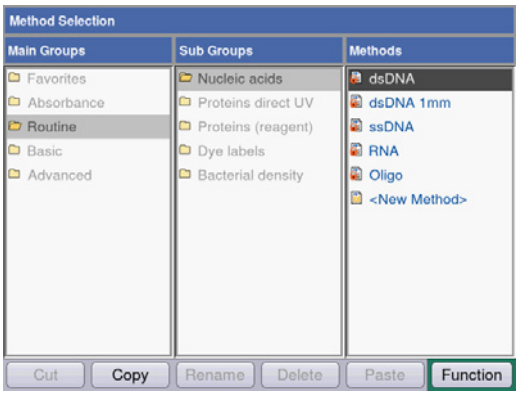
Type de cuve/volume de mesure	**Température de départ et température cible**	**Durée de thermostatisation**
Cuve macro en verre quartzeux 1 500 µL	25 °C → 37 °C	env. 7 min
	37 °C → 25 °C	env. 11 min
	25 °C → 30 °C	env. 7 min
Cuve macro en plastique 1 000 µL	25 °C → 37 °C	env. 13 min
	37 °C → 25 °C	env. 19 min
Cuve mi-micro en verre quartzeux 500 µL	25 °C → 37 °C	env. 7 min
	37 °C → 25 °C	env. 12 min
Cuve ultra-micro en verre quartzeux 60 µL	25 °C → 37 °C	env. 7 min
	37 °C → 25 °C	env. 9 min
	25 °C → 30 °C	env. 5 min

- Pour une thermostatisation efficace, le volume de la solution de mesure contenu dans la cuve ne doit pas dépasser du bord du porte-cuve.
- Afin d'accélérer le cycle de mesure pour la mesure de séries, vous pouvez effectuer une préthermostatisation des cuves avec un réactif dans un thermostat en dehors du BioSpectrometer, avant la mise en place de la cuve dans le porte-cuve et l'ajout de l'échantillon.
- Si vous passez d'une application avec thermostatisation à une application sans thermostatisation, veillez à ce que la température du porte-cuve revienne lentement à la température ambiante. Ceci peut influencer les résultats de l'application effectuée sans thermostatisation.

6 Méthodes

6.1 Sélection de la méthode

Les méthodes et les modèles de méthodes sont pré-programmés à la livraison. Les méthodes sont classées en groupes principaux et sous-groupes.



Méthodes sauvegardées à l'écriture		Les principales méthodes utilisées en biologie moléculaire. Vous pouvez modifier les paramètres mais vous ne pouvez les enregistrer que sous un nouveau nom de méthode.
Méthodes non sauvegardées à l'écriture		Vous pouvez modifier les paramètres de manière quelconque et commencer la mesure directement après la sauvegarde.
Modèles de nouvelles méthodes		Chaque groupe contient un modèle qui est pré-programmé avec des kits de paramètres complets afin de simplifier la programmation de nouvelles méthodes. Les paramètres peuvent être modifiés de manière quelconque et enregistrés sous un nouveau nom.

Pour appeler une méthode, sélectionnez d'abord le groupe principal, le sous-groupe et la méthode à l'aide des touches curseur. Confirmez par **enter**.

Tab. 6-1: Méthodes photométriques

Absorbance	Méthodes utilisées pour mesurer rapidement et facilement l'absorbance, sans autre évaluation.
Routine	Méthodes utilisées fréquemment en biologie moléculaire. Les méthodes sont pré-programmées. Les paramètres peuvent être modifiés en les sauvegardant sous un nouveau nom.
Basic	Méthodes d'évaluation des mesures de l'absorbance avec facteur, standard ou courbe/ droite standard. Modèle de méthodes utilisé pour mesurer et évaluer les vitesses.
Advanced	Méthodes utilisées pour l'évaluation des procédés de mesure à deux longueurs d'onde et des vitesses avec options d'évaluation plus complexes.
Favorites	Dans les ***Favorites***, vous pouvez configurer vos propres dossiers avec **<New Folder>** pour y copier les méthodes utilisées fréquemment et y accéder rapidement.

Dans tous les dossiers, vous créez de nouvelles méthodes avec **<New Method>**.

Dans ***Favorites***, vous créez (par ex. pour l'affectation personnalisée), renommer et supprimer vos propres dossiers.

Tab. 6-2: Touches programmables dans la sélection de méthodes

[Cut] et [Paste]	Couper et insérer des méthodes.
[Copy] et [Paste]	Copier et coller des méthodes.
[Delete]	Supprimer des méthodes.
[Rename]	Renommer des méthodes.

Vous insérez les méthodes copiées ou coupées soit dans un autre dossier sous ***Favorites*** soit dans le dossier d'origine, sous un nouveau nom. À l'aide des touches curseur, naviguez dans la colonne **Methods** du dossier désiré et pressez la touche [paste] pour insérer la méthode.

6.2 Description des méthodes utilisées en photométrie

Ce chapitre est consacré aux méthodes pré-programmées et aux modèles de méthodes.

6.2.1 Groupe de méthodes *Absorbance*

Single λ
- Mesure de l'absorbance à une longueur d'onde.
- Pas d'évaluation connectée en aval.

Single λ
- Répétition de la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde.
- Il est possible de saisir des paramètres pour effectuer la thermostatisation à des températures comprises entre 20 et 42 °C (pré-réglage : 37 °C).
- Saisie des paramètres de l'intervalle de temps et de la durée totale pour les points de mesure. Pendant la mesure, un arrêt prématuré est possible.
- Évaluation sous forme de vitesse via **Lineare Regression**. L'intervalle de temps peut être modifié ultérieurement pour l'évaluation.
- Les points de mesure sont représentés dans un graphique d'absorbance-temps.
- Pour évaluer ultérieurement les points de mesure sous forme de vitesses par régression linéaire, pressez la touche programmable [Next >] et allez à l'étape **process results.**

Multi λ
- Mesures de l'absorbance pour deux à six longueurs d'onde.
- Pas d'évaluation connectée en aval.

Scan
- Mesure d'un spectre de longueurs d'onde d'absorbance via une plage de longueurs d'onde définie.
- Affichage de la longueur d'onde et de l'absorbance du spectre en naviguant avec un curseur de longueur d'onde.
- La section du spectre peut être modifiée à l'aide de 3 différentes variantes de zoom.
- Identification des pics possible.

6.2.2 Groupe de méthodes *Routine*

Les méthodes du groupe ***Routine*** sont pré-programmées sous forme de méthodes fixes. Après avoir modifié les paramètres dans les méthodes pré-programmées sur des valeurs fixes, il faudra donc modifier le nom de la méthode.

Nucleic acids

- Détermination de la concentration des acides nucléiques par une mesure effectuée à 260 nm et une évaluation avec facteur.
- Différentes méthodes d'évaluation de l'acide nucléique comme dsADN ou ARN sont pré-programmées dans le système. Les paramètres se distinguent au niveau du facteur.
- Méthode pré-programmée pour les cuves de microlitres : mesure de l'ADN dans des microlitre(s) d'échantillons avec faisceau lumineux de 1 mm (avec cuves de l'ordre du microlitre comme Eppendorf µCuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- Informations complémentaires sur la pureté de l'acide nucléique mesuré : rapport A260/A280, rapport A260/A230, spectre de longueurs d'onde d'absorbance pour l'acide nucléique, absorbance de la longueur d'onde d'arrière-plan (pré-réglage : 320 nm; l'absorbance de l'acide nucléique pur devrait être ici autour de zéro).
- Correction partielle de la turbidité possible à l'aide du paramètre **Background**.
- Conversion des concentrations en concentrations molaires et (après la saisie du volume de l'échantillon) possibilité de conversion en quantités d'acide nucléique (étape : **process results**).

Proteins direct UV

- Détermination de la concentration des protéines par une mesure effectuée à 280 nm et évaluation avec facteur ou standard.
- Méthodes pré-définies pour l'édition directe des absorbances sous forme de résultat *(protéine A 280)* et pour l'évaluation réalisée avec des coefficients d'absorbance spécifiques à l'albumine *(albumine A 280).*
- Méthode pré-programmée pour les cuves de microlitres : mesure de la protéine dans les échantillons de un ou plusieurs microlitre(s) avec faisceau lumineux de 1 mm (avec cuves de microlitres comme Eppendorf µCuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- Informations complémentaires sur la pureté de la protéine mesurée : absorbance de la longueur d'onde d'arrière-plan (prédéfinie : 320 nm; l'absorbance de la protéine pure devrait être ici d'env. zéro).
- Correction partielle de la turbidité possible à l'aide du paramètre **Background**.
- Lors de la programmation de la méthode, le facteur pertinent est importé en sélectionnant la protéine dans une liste de prescriptions. Les facteurs sont définis séparément dans les fonctions du groupe **Gen. method param.** Différentes protéines sont pré-programmées dans **Gen. method param.**. Vous pouvez en ajouter d'autres.

Proteins (with reagent)

- Détermination de la concentration des protéines par une mesure basée sur les réactions des colorants et par une évaluation avec standards ou facteur (généralement : évaluation avec courbe standard).
- Les méthodes *Bradford, Bradford micro, Lowry, Lowry micro, BCA et BCA micro* sont pré-programmées. Suivant le fabricant de réactif, il faudra éventuellement modifier la "Curve fit" (type de courbe standard).

Dye labels

- Pour les biomolécules marquées au colorant : détermination de la concentration de la biomolécule (acide nucléique ou protéine) par une mesure effectuée à 260 ou 280 nm et du colorant au cours d'une mesure.
- Évaluation avec facteur. Outre la biomolécule, il est possible de mesurer parallèlement jusqu'à deux colorants à deux différentes longueurs d'onde.
- Par ailleurs, évaluation de la fréquence d'incorporation du colorant (FOI). Sélection entre deux différents procédés de calcul FOI.
- Méthodes déjà pré-programmées : *ssDNA,* marquées avec *Cy 3* ou *Cy 5*.
- Il est possible de corriger l'influence du spectre de colorants sur la justesse de la mesure de la biomolécule.
- Correction partielle de la turbidité possible à l'aide du paramètre **Background**.
- Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A280 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'absorbance.
- Lors de la programmation de la méthode, il suffit de sélectionner la biomolécule et le colorant dans des listes prescrites pour importer différents paramètres pertinents comme les longueurs d'onde de mesure et les facteurs d'évaluation. Ces paramètres sont définis séparément dans les fonctions du groupe **Gen. method param.** Différents acides nucléiques, protéines et colorants sont pré-programmés dans **Gen. method param.**. Vous pouvez ajouter d'autres acides nucléiques, protéines et colorants.
- Ne concerne que les acides nucléiques marqués : il est possible de convertir les concentrations en concentrations molaires et (après la saisie du volume d'échantillon) en quantités d'acide nucléique et de colorant (étape : **process results**).

Bacterial density

- Mesure de la turbidité pour déterminer la densité bactérielle.
- La mesure à 600 nm est déjà pré-programmée.
- Informations complémentaires : spectre de longueurs d'onde d'absorbance.

6.2.3 Groupe de méthodes *Basic*

Factor, standard

- Mesure effectuée à une longueur d'onde et évaluation avec facteur ou standard.
- Les méthodes d'évaluation avec facteur ou standard sont pré-programmées.

Calibration curve

- Mesure effectuée à une longueur d'onde suivie de l'évaluation avec une série de 2 à 12 standards.
- Différents procédés d'évaluation ("Curve fit") comme régression linéaire, régression non linéaire sont proposés.
- Affichage des résultats standards sous forme de graphique ou de tableau.
- Possibilité d'utilisation de la dernière évaluation standard enregistrée.
- Une méthode est pré-programmée pour l'évaluation avec courbe standard.

Simple kinetics

- Mesure d'une vitesse à une longueur d'onde suivie de l'évaluation avec facteur.
- 3 différents procédés de mesure sont possibles :
  - "linear regression" : évaluation d'une série de points de mesure enregistrés à des intervalles.
  - "two point" : calcul de ΔA/min à partir de 2 points de mesure, à des moments définis.
  - "endpoint" : enregistrement d'un point de mesure à un moment défini.
- Possibilité d'entrer des paramètres en vue d'une thermostatisation effectuée à des températures de 20 à 42 °C (pré-réglage : 37 °C).
- Lors du procédé de mesure "linear regression", la courbe d'absorbance-temps sera représentée dans un graphique.
- Une méthode d'évaluation par régression linéaire est pré-programmée dans le système et peut être modifiée en sélectionnant d'autres procédés d'évaluation ("endpoint", "two.point").

6.2.4 Groupe de méthodes *Advanced*

Dual wavelength

- Mesure effectuée à deux longueurs d'onde et évaluation des valeurs d'absorbance mesurées à l'aide de deux formules de base (soustraction, division)
- Il est possible de varier les formules de base.
- Le résultat peut être évalué avec un facteur, un standard ou une série standard.
- Des méthodes de calcul par soustraction ou division suivi d'une évaluation avec facteur sont pré-programmées.

Advanced kinetics

Au-delà de la désignation de la méthode *Simple kinetics* (groupe de méthodes ***Basic***), vous avez les possibilités suivantes :

- Mesure d'une vitesse de la valeur à blanc du réactif. Le résultat de la valeur à blanc sera soustrait de tous les résultats des échantillons avant l'évaluation.
- Outre l'évaluation avec facteur, vous pouvez également effectuer une évaluation avec standard.

6.3 Paramètres des méthodes

Ce chapitre décrit les paramètres nécessaires à programmer les méthodes. Pour certaines méthodes, l'ordre des paramètres présenté dans l'affichage de l'appareil peut légèrement varier par rapport au tableau afin d'obtenir une présence succincte. Le tableau représente la totalité des paramètres disponibles dans les différentes méthodes. Chaque méthode ne nécessite que quelques paramètres qui apparaissent dans l'affichage.

Paramètre	**Entrée**	**Explication**
Cuve	Sélection : 10 | 5 | 2 | 1 | 0,5 | 0,2 | 0,1 mm	Larg.trajet optique de la cuve. Les valeurs d'absorbance sont converties automatiquement par l'appareil en trajet optique de 10 mm d'une cuve standard (voir *Valeurs d'absorbance à la page 107)*. Les facteurs comme "50" nécessaires au calcul des concentrations de dsADN restent donc inchangés lorsque vous modifiez le paramètre **Cuvette**.
No. of wavelengths	Valeur entrée : Plage: 2 à 6.	Réservé au groupe de méthodes **Multi λ**. Nombre de longueurs d'onde utilisées pour la mesure.
Longueur d'onde	Valeur entrée : Longueur d'onde de mesure en nm. Plage: 200 à 830 nm.	Longueur d'onde de mesure : la concentration est calculée à partir de l'absorbance mesurée à cette longueur d'onde. Entrez plus d'une longueur d'onde pour les groupes **Multi λ** et **Dual wavelength**. Les longueurs d'onde de certains groupes (par ex. **Nucleic acids** et **Proteins direct UV**) sont pré-programmées sur des valeurs fixes. Pour le groupe **Dye labels**, n'entrez pas de longueurs d'onde de mesure individuelles dans le déroulement de le méthode. Vous les importez automatiquement en choisissant la biomolécule et le colorant dans la fonction **General Method Parameters**.
Unit	Sélection : mg/mL | µg/mL | ng/mL | pg/mL | µg/µL | mg/dL | µmol/mL | nmol/mL | pmol/mL | pmol/µL | U | U/mL | U/L | % | Abs | A/min Possibilité de programmer d'autres unités dans la fonction **General Method Parameters/Units**. Max. 7 chiffres.	Unité du rés. de concentration. La sélection est limitée à des unités adaptées aux méthodes du groupe ***Routine*** pré-programmées sur des valeurs fixes.
Formula type	Sélection : division | subtraction	Réservé au groupe **Dual wavelength**. Type de formule utilisé pour calculer les absorbances aux deux longueurs d'onde de mesure, avant l'évaluation avec facteur ou standard.

Paramètre	Entrée	Explication
Formula : *a*	Valeur entrée : Valeur de *a* dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 chiffres y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe **Dual wavelength**. Valeur de *a* dans les formules : *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* et *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula : *b*	Valeur entrée : Valeur de *b* dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 chiffres y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe **Dual wavelength**. Valeur de *b* dans les formules : *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* et *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula : *c*	Valeur entrée : Valeur de *c* dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 chiffres y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe **Dual wavelength**. Valeur de *c* dans les formules : *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* et *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula : *d*	Valeur entrée : Valeur de *d* dans la formule d'évaluation. Limite : max. 5 chiffres y compris séparateur décimal.	Réservé au groupe **Dual wavelength**. Valeur de *d* dans les formules : *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* et *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Calculation	Sélection : Factor, standard	Procédé d'évaluation utilisé pour calculer la concentration d'échantillon à partir de l'absorbance mesurée.
Factor	Valeur entrée : Facteur. Limite : max. 6 chiffres y compris séparateur décimal.	Facteur de conversion des valeurs d'absorbance en concentration. Dans les groupes suivants, vous pouvez également entrer des facteurs négatifs : **Simple kinetics, Advanced kinetics, Dual wavelength, Factor**. Pour le groupe **Dye labels**, n'entrez pas les facteurs séparément dans le déroulement. Vous les importez en sélectionnant automatiquement la biomolécule et le colorant dans la fonction **General Method Parameters**.
Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV	Sélection : Liste de types de protéines enregistrées dans la fonction **General Method Parameters/Proteins**.	Réservé aux groupes **Dye labels** et **Proteins direct UV.** Lors du choix de la protéine, la fonction **General Method Parameters/Proteins** permet également d'importer le paramètre **Factor** pertinent qui y est programmé.

Paramètre	Entrée	Explication
Si vous faites les évaluations avec plus d'un standard, utilisez [Curve fit] dans l'étape measure standards/new pour sélectionner les procédés d'évaluation suivants de la courbe/droite de standards :	Valeur entrée : Nb de standards. Plage : 1 à 12.	Nombre de concentrations standards nécessaires à l'évaluation avec standards. Dans certaines méthodes, la zone est limitée à un nombre de standards compris entre 1 et 12.
Replicates	Valeur entrée : Nombre de réplicats par standard. Plage : 1 à 3.	Nombre de mesures répétitives nécessaire aux différentes concentrations standard.
Std. Conc.	Valeur entrée : Valeurs de concentration des standards. Limite : max. 6 chiffres y compris séparateur décimal.	Suivant le nombre de standards, ce paramètres sera proposé pour tous les standards (par ex. : Std. Conc. 1Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Valeur entrée : Nombre de chiffres après la virgule déterminé pour le résultat. Plage : 0 à 3.	Nombre de chiffres après la virgule défini pour le résultat de la concentration calculé.
Dye 1	Sélection : Liste de colorants enregistrés dans la fonction **General Method Parameters/ Dyes**.	Réservé au groupe **Dye labels**. Lors du choix du colorant, les paramètres de la fonction **General Method Parameters/Dyes** qui s'y rattachent, sont également importés : facteur, longueur d'onde, évent. facteurs de correction pour la mesure effectuée à 260 ou 280 nm (voir la désignation du paramètre suivant).
Correct A260 1	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels**. Correction de l'influence du spectre de colorants sur l'absorbance, à la longueur d'onde de mesure de la biomolécule (260 ou 280 nm). À l'heure actuelle, les spectres de colorants ont une faible absorbance à 260 et 280 nm. Ces absorbances falsifient les calculs des acides nucléiques ou des protéines de ces méthodes. Pour réduire ce problème, on utilise des facteurs de correction des différents colorants, à condition de les connaître. Si le paramètre est activé, le facteur de correction sera importé de la fonction **General Method Parameters/Dyes**.

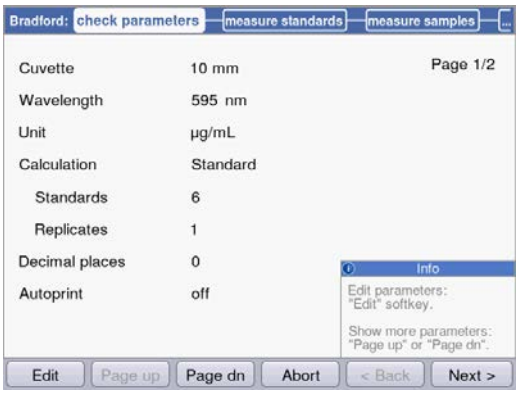
Paramètre	Entrée	Explication
Correct A 280 1	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels**. Pour en savoir plus, veuillez lire la description du paramètre proposée ci-dessus **Correct A 260 1**.
Dye 2	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels**. Possibilité de mesurer parallèlement un deuxième colorant. Application : marquage d'une biomolécule avec deux colorants.
Dye 2	Sélection : Liste de colorants enregistrés dans la fonction **General Method Parameters/ Dyes**.	Réservé au groupe **Dye labels** lors de la mesure de 2 colorants. Sélection du deuxième colorant (voir paramètre **Dye 1**).
Correct A260 2	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels** lors de la mesure de 2 colorants. Analogue au paramètre **Correct A 260 1**.
Correct A 280 2	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels** lors de la mesure de 2 colorants. Analogue au paramètre **Correct A 280 1**.
Show scan	Sélection : on | off	Affichage d'un balayage (graphiques de longueurs d'onde d'absorbance) en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.
Start λ	Valeur entrée : Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Longueur d'onde de démarrage à l'enregistrement d'un balayage.
Stop λ	Valeur entrée : Longueur d'onde en nm. Plage: 200 à 830 nm. La valeur doit être supérieure à la valeur de **Start λ**.	Longueur d'onde d'arrêt à l'enregistrement d'un balayage.
Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A280 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'absorbance.	Sélection : on | off	Réservé aux acides nucléiques. Affichage du rapport A260/A280 en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.

Paramètre	Entrée	Explication
Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A230 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'absorbance.	Sélection : on | off	Réservé aux acides nucléiques. Affichage du rapport A260/A230 en complément du résultat de la mesure de l'échantillon.
FOI	Sélection : none | dye/kb | pmole/µg	Réservé au groupe **Dye labels**. Affichage du FOI en complément du résultat de la mesure de l'échantillon. Le FOI (Frequency of Incorporation) est le nombre de molécules de colorants incorporées dans l'acide nucléique par molécule d'acide nucléique. Les unités sont le "dye/kb" (molécule de colorant pour 1000 bases) ou le "pmole/µg" (pmol de colorant par µg d'acide nucléique). "none" : pas de calcul du FOI.
Avant de déterminer le résultat d'un échantillon, l'absorbance d'une longueur d'onde d'arrière-plan, à laquelle l'analyte à mesurer devra avoir une absorbance de zéro, sera soustraite de l'absorbance obtenue à la longueur d'onde de mesure.	Sélection : on | off	Avant de déterminer le résultat d'un échantillon, l'absorbance d'une longueur d'onde d'arrière-plan, à laquelle l'analyte à mesurer devra avoir une absorbance de zéro, sera soustraite de l'absorbance obtenue à la longueur d'onde de mesure. Application fréquente : correction partielle de la turbidité lors de la mesure des acides nucléiques (longueur d'onde d'arrière-plan nécessaire : 320 nm ou 340 nm).
Wavelength	Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Longueur d'onde utilisée pour mesurer l'arrière-plan. L'analyte à mesurer devrait avoir une absorbance égale à zéro dans sa forme pure.
Background for dyes	Sélection : on | off	Réservé au groupe **Dye labels**. Application de la correction d'arrière-plan à la mesure du colorant (voir le paramètre **Background**).
Wavelength	Longueur d'onde en nm. Plage : 200 à 830 nm.	Réservé au groupe **Dye labels**. Longueur d'onde utilisée pour mesurer l'arrière-plan destiné au colorant. Le colorant à mesurer devrait avoir une absorbance égale à zéro dans sa forme pure, non contaminée.
Temperature on	Sélection : on | off	Réservé aux méthodes des vitesses. Utilisation du contrôle de la température de la cuve.

Paramètre	Entrée	Explication
Temperature	Valeur entrée : Température en °C. Plage : 20 à 42 °C.	Réservé aux méthodes des vitesses. Entrée de la température utilisé pour la thermostatisation de la cuve lorsque le paramètre **Temperature** est réglé sur "on". **Attention ! Dommages et mesures erronées provoqués par la présence d'eau de condensation.** Lorsque l'humidité de l'air est importante, et que la température d'une cuve est nettement inférieure à la température ambiante, il peut s'y former de l'eau de condensation. La présence d'eau de condensation peut endommager l'optique et entraîner des résultats de mesure erronés. ▸ Ne thermostatisez pas la cuve de manière durable à une température nettement inférieure à la température ambiante. Respectez le point de rosée éventuellement indiqué.
Measuring procedure	Sélection : lin.regr. | endpoint | two point	Réservé aux méthodes des vitesses. "linear regression" : mesure réalisée à plusieurs moments, à intervalles fixes et au cours d'une période définie. Évaluation par régression linéaire du graphique absorbance-temps, au cours de la durée de la mesure. Résultat de l'absorbance : ΔA/min. "endpoint" : mesure d'un point de mesure, après une durée définie. Résultat de l'absorbance : A. "two point" : mesure de 2 points de mesure à des moments définis. Évaluation : par interpolation linéaire entre ces points de mesure, dans le graphique absorbance-temps. Résultat de l'absorbance : ΔA/min.
Absorbance et/ou A/min pour le réactif Blank.	Sélection : on | off	Réservé aux méthodes de vitesses du groupe **Advanced kinetics** lors de l'évaluation avec facteur. Mesure de la valeur à blanc d'un réactif (RL). La valeur RL est mesurée d'après le même procédé que celui utilisé pour un échantillon. Le résultat de l'absorbance exprimé en A ou ΔA/min est soustrait de l'absorbance de l'échantillon avant de calculer la concentration de l'échantillon. Application : correction des résultats de l'échantillon aux vitesses déterminées avec écart de réactif. La valeur à blanc du réactif contient le réactif et l'échantillon qui se présente sous forme d'eau déminéralisée.
Delay	Valeur entrée : Temps de l'initi. au 1er pt de mesure. Plage: 00:00 à 10:00 min:sec.	Réservé aux méthodes de vitesses. Durée écoulée entre le début de la mesure et l'enregistrement du premier point de mesure.

Paramètre	Entrée	Explication
Measuring time	Valeur entrée : Temps entre 1er et dernier pt de mesure. Plage: 00:05 à 59:59 min:sec.	Réservé aux méthodes de vitesses et procédés "lin.regr." et "two point". Durée écoulée entre l'enregistrement du premier et du dernier point de mesure.
Total time	Valeur entrée : Temps entre 1er et dernier pt de mesure. Plage: 00:05 à 59:59 min:sec.	Réservé à la méthode de vitesses **Single λ – cont**. Durée écoulée entre l'enregistrement du premier et du dernier point de mesure.
Interval	Valeur entrée : Temps entre deux pts de mesure. Plage: 00:05 à 10:00 min:sec.	Réservé aux méthodes de vitesses et procédés "lin.regr.". Intervalle de temps entre les points de mesure.
Autoprint	Sélection : on | off	Impression du résultat sur thermo-imprimante, directement après la mesure. Seules les principales données du résultat sont imprimées. Pour obtenir une édition détaillée des données, vous pouvez regrouper et imprimer les paquets de données désirés après la série de mesures, dans l'étape **print & export**.

6.4 Déroulement de la méthode



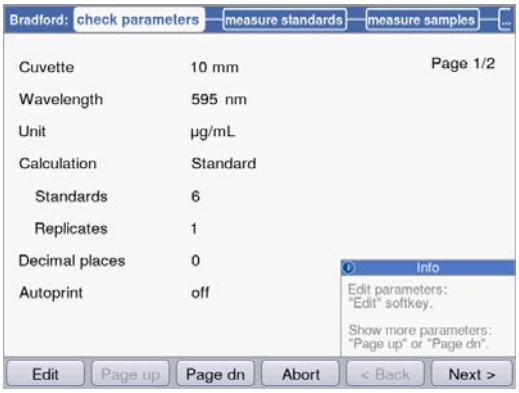
Le "Wizard" qui apparaît en haut de l'affichage vous guide au travers de la méthode. L'étape activée est toujours mise en relief.

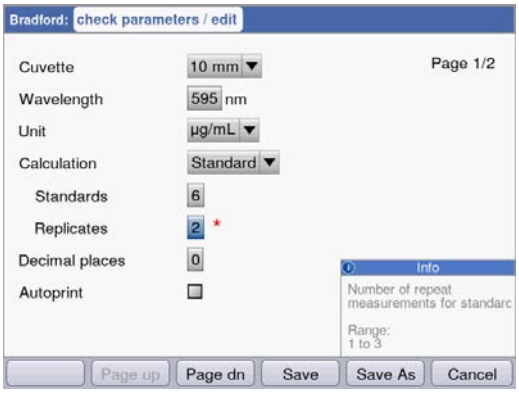
Une méthode est constituée de maximum 5 étapes. L'étape activée est mise en relief. Après la dernière étape **print & export** d'une série de mesures, le système propose de lancer une nouvelle série. Elle commencera également par la mesure de l'échantillon.

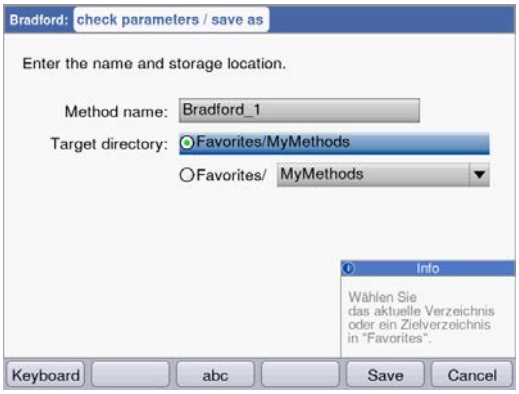
Étape de la méthode	Explication
check parameters	Contrôle des paramètres de la méthode. À modifier en cas de besoin.
measure standards	Réservé aux méthodes avec évaluation standard : Mesure et évaluation des standards. Utilisation possible de la dernière évaluation standard enregistrée.
measure samples	Mesure des échantillons
process results	Réservé à certaines méthodes : ajustage des résultats, par ex. zoom des graphiques du balayage.
print & export	Établissement de paquets de données pour imprimer ou exporter les données.

À l'aide des touches programmables [Next >] et [< Back], naviguez entre les étapes de la méthode. Avec [Abort] et [Finish], vous pouvez abandonner ou terminer la mesure. Après la première mesure d'échantillons, le nom de cette touche programmable passe de [Abort] à [Finish].

6.4.1 Dans l'étape Check parameters de la méthode, les paramètres généraux sont alors sélectionnés via les cases à cocher.







Touches programmables

- [Page dn] et [Page up]: défiler entre les pages de paramètres, de la 1ère à la 3ème.
- [Edit]: passer au mode d'édition des paramètres.

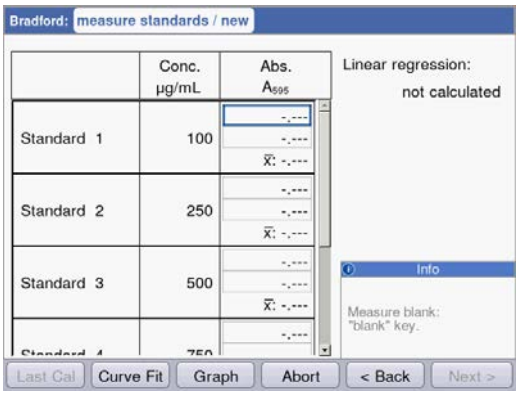
Mode d'édition des paramètres :
Les paramètres modifiés sont marqués d'une étoile rouge tant que la modification n'a pas été enregistrée.

Touches programmables

- [Save] et [Save as]: enregistrer les modifications. L'option [Save as] vous demande d'affecter un nouveau nom à la méthode. C'est toujours le cas lorsque vous modifiez les méthodes du groupe ***Routine*** préprogrammées par Eppendorf.
- [Cancel]: quitter le mode édition sans enregistrer les modifications.

Enregistrement de la méthode sous au nouveau nom :
Vous pouvez enregistrer la méthode soit dans le dossier que vous avez utilisé pour appeler la méthode, soit dans le groupe de méthodes ***Favorites***, c'est-à-dire dans un dossier de votre choix.
Entrez le nom (20 caractères maximum) sur un clavier qui apparaît à l'écran (touche programmable [Keyboard]) ou directement sur le pavé numérique (voir *Saisir du texte à la page 25)*.
Après l'enregistrement, vous retournez à l'affichage **check parameters**.

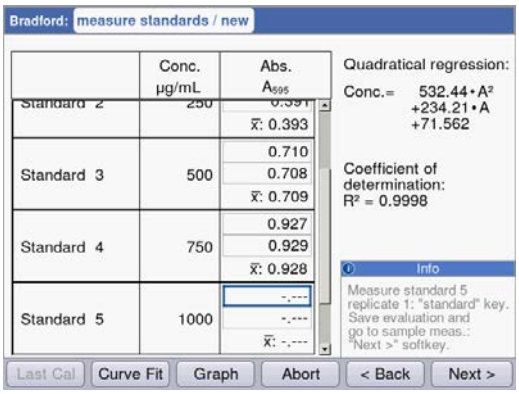
6.4.2 measure standards



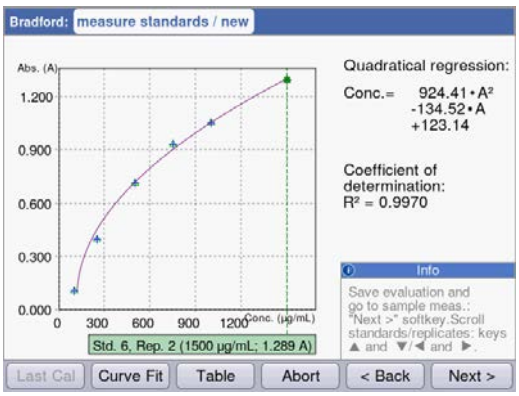
Le premier standard à mesure est marqué dans l'affichage. Après la valeur à blanc (touche **blank**) de la série, mesurez successivement tous les standards (touche **standard**).
Si vous mesurez plus d'un réplicat par standard, le système calcule et affiche automatiquement la valeur médiane de chaque standard.
À l'aide des touches curseur ▲ et ▼, vous pouvez également sélectionner des standards précis pour effectuer la mesure. Ceci permet également de remesurer différents standards.

Touches programmables

- [Last cal]: appel de la dernière évaluation standard enregistrée pour cette méthode afin de l'utiliser pour mesurer l'échantillon.
- [Curve fit]: sélection du procédé d'évaluation standard. Vous pouvez également modifier le procédé ultérieurement tant que le résultat n'est pas enregistré. Pour en savoir plus sur la sélection du procédé d'évaluation, allez au chapitre Procédés d'évaluation(voir *Évaluation avec courbe / droite de standards à la page 110)*.
- [Graph]: passer à l'affichage graphique des résultats standards.



Dès que vous disposez du nombre minimum de résultats nécessaire au procédé choisi (Curve fit), le résultat de l'évaluation apparaîtra dans la partie de droite de l'affichage. Vous pourrez alors effectuer un enregistrement préalable de l'évaluation et passer à la mesure à l'aide de la touche [Next >].



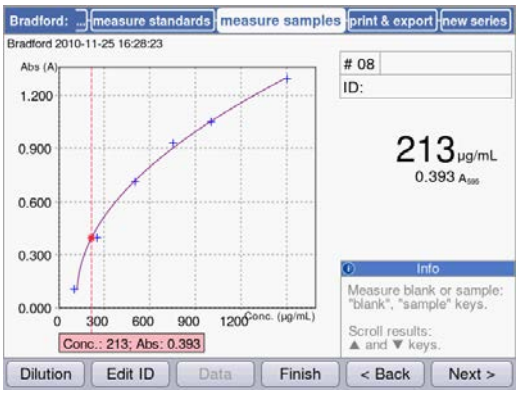
Vue graphique de l'évaluation standard.
À l'aide des touches curseur ◄ et ►, naviguez entre les standards pour afficher les résultats. Si vous avez plus d'un réplicat par standard, passez entre les résultats avec ▲ et ▼. Vous pouvez également sélectionner, mesurer ou remesurer certains standards à partir de l'affichage graphique.

Touches programmables

- [Table]: afficher les résultats standards dans un tableau.
- [Next >]: enregistrer l'évaluation standard et passer à la mesure de l'échantillon.

6.4.3 measure samples

Avec la touche **sample**, vous mesurez vos échantillons les uns après les autres. Les résultats de la valeur à blanc restent enregistrés pendant une série. Vous pouvez cependant réitérer à tout moment la mesure de la valeur à blanc. À l'aide des touches ▲ et ▼, naviguez entre les résultats obtenus jusqu'à présent dans la série.



Affichage du résultat :

- Le résultat de la concentration (6 chiffres à virgule flottante) est nettement mis en relief.
- Avec graphique : résultat placé à droite de l'affichage.
- Sans graphique : résultat placé au centre de l'affichage.
- Outre le résultat, la valeur de l'absorbance utilisée est également réduite à l'affichage.

Données complémentaires

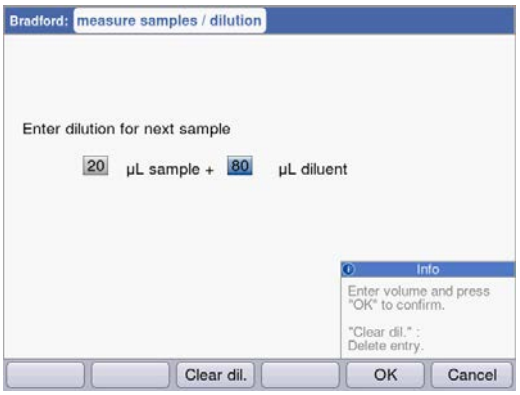
- en haut à droite ; 1ère ligne :
  Numéro d'échantillon : numérotation continue, remise à "1" au démarrage d'une nouvelle série.
  Dilution de l'échantillon (si elle a été entrée)
- en haut à droite ; 2ème ligne :
  Identification de l'échantillon (**ID**) (si elle a été entrée)
- en haut à gauche :
  Nom du fichier utilisé pour l'exportation des données de l'étape **print and export** sous forme de fichier Excel (voir p. 65).

Touches programmables

- [Dilution]: entrer la dilution.
- [Edit ID]: entrer l'ID de l'échantillon
- [Data]: affichage des données des résultats supplémentaires (ne s'applique pas à toutes les méthodes).
- [Finish]: terminer la série de mesures et retourner à la sélection de la méthode.

Les valeurs d'absorbance affichées correspondent toujours aux valeurs directement mesurées. Le facteur de dilution ou de la cuve ainsi que les absorbances d'arrière-plan ne sont pris en compte que dans le calcul du résultat effectué après (voir *Valeurs d'absorbance à la page 107)*.

Entrer la dilution



La touche programmable [Dilution] est activée après avoir mesuré la valeur à blanc (touche **blank)**.

1. Pressez la touche programmable [Dilution].
2. Entrez les volumes de l'échantillon (maximum 3 chiffres) et du tampon de dilution (maximum 4 chiffres).

L'appareil multiplie alors les résultats suivants par le facteur de dilution calculé.

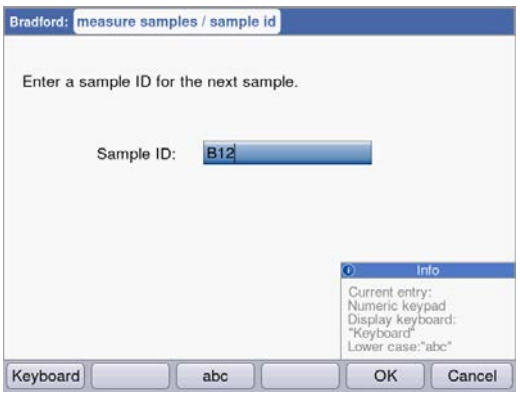
Touches programmables

- [Clear dil.]: supprimer les valeurs de dilution.
- [OK]: confirmer la dilution et retourner à la mesure de l'échantillon.
- [Cancel]: abandonner la saisie et retourner à la mesure de l'échantillon.

La dilution s'applique à tous les résultats suivants jusqu'à ce qu'elle soit modifiée.

Entrer l'ID de l'échantillon

L'ID est utilisée pour le résultat suivant. Avant de pouvoir entrer une ID, le système propose la dernière ID saisie afin d'obtenir des valeurs successives bien structurées. Il n'est pas possible d'avoir une ID double dans une même série de mesures.



1. Pressez la touche programmable [Edit ID].
2. Entrez l'ID de l'échantillon (12 chiffres maximum).

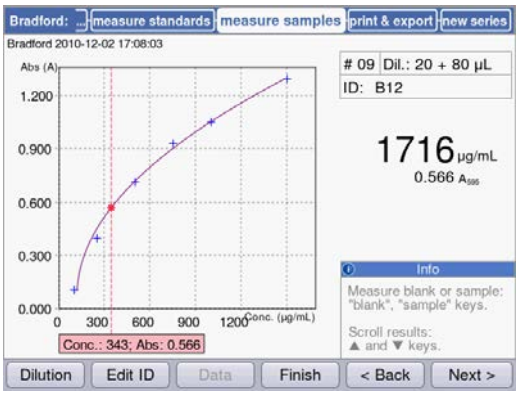
Alternatives à la saisie du texte :

- Pavé numérique: pressez la touche plusieurs fois pour faire apparaître les différentes options proposées avec cette touche.
- Afficher le clavier avec touche programmable [Keyboard]: sélectionnez les caractères à l'aide des touches curseur et confirmez par **enter**.

Touches programmables

- [Keyboard]: afficher le clavier.
- [abc]: passer des lettres majuscules aux lettres minuscules. Ne concerne que les entrées faites sur le clavier.
- [OK]: confirmer l'ID entrée et retourner à la mesure de l'échantillon.
- [Cancel]: abandonner la saisie et retourner à la mesure de l'échantillon.

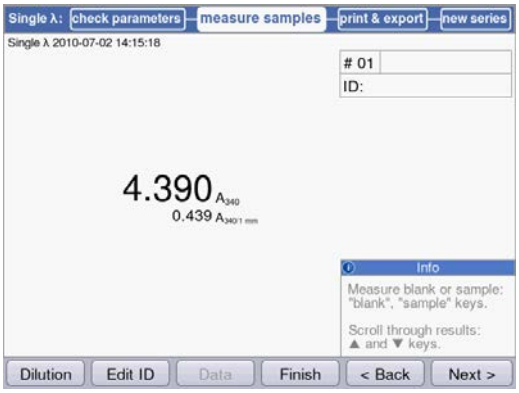
Affichage du résultat avec dilution et ID

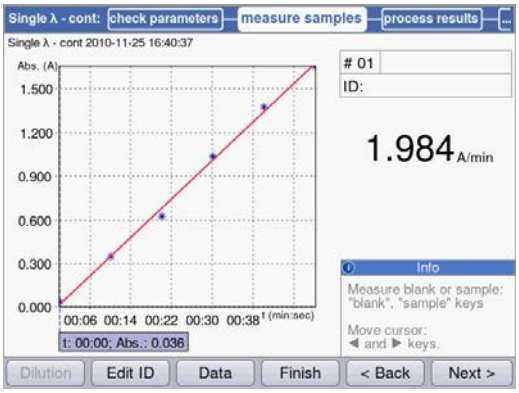
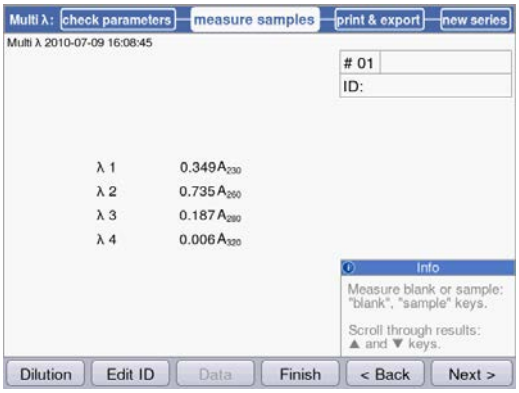


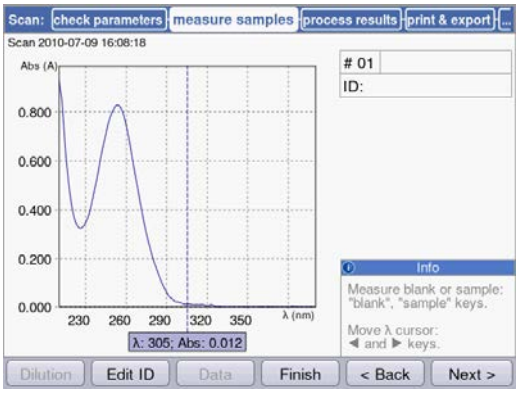
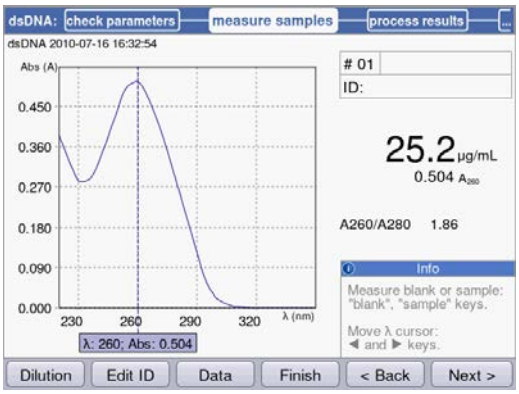
Affichage du résultat avec dilution et ID de l'échantillon.

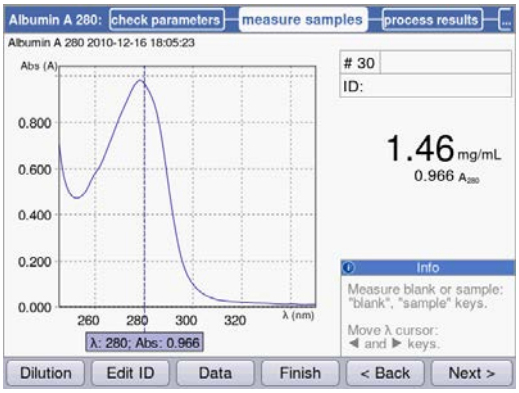
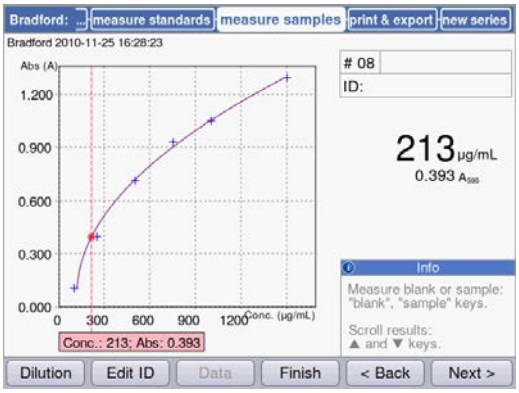
6.4.4 measure samples: affichages du résultat

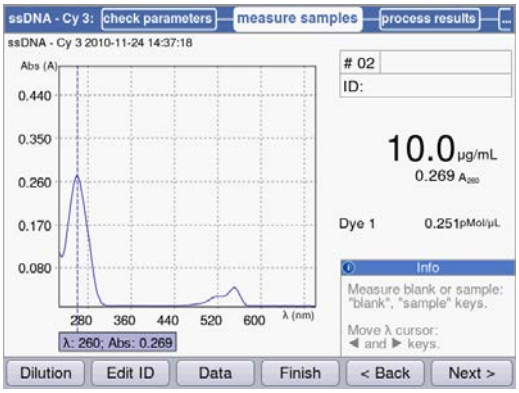
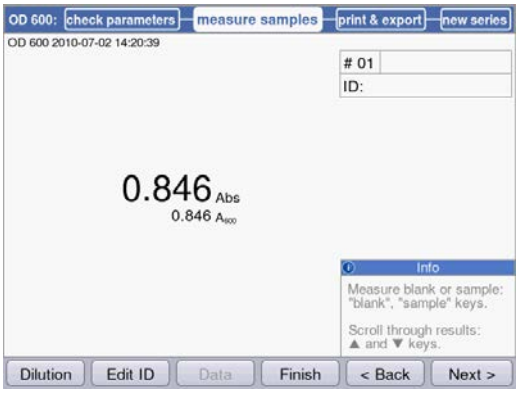
Pour tous les groupes de la méthode, cette section propose une représentation des résultats typiques et une vue d'ensemble des autres données de résultats disponibles à l'aide de la touche programmable [Data].

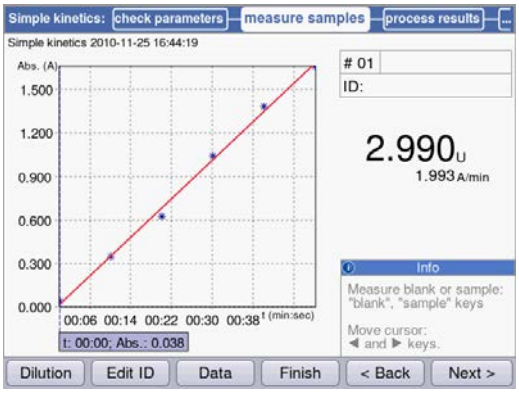
Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Groupe principal *Absorbance*		
Single λ		Affichage du résultat : • Absorbance à la longueur d'onde de mesure • Uniquement pour dilution ou cuve autre que 10 mm : affichage supplémentaire de l'absorbance avant la conversion.

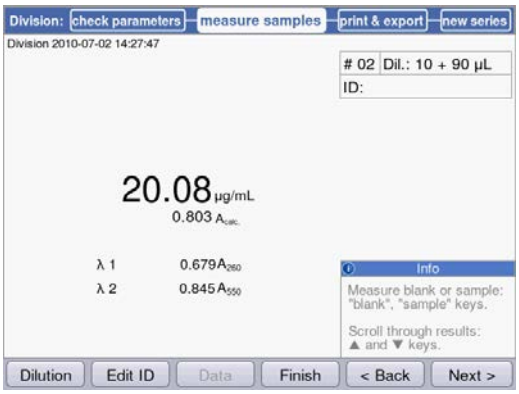
Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Single λ		Avant la mesure : • Étape de la méthode **check parameters**: affichage de la thermostatisation. Dès que la température définie dans les paramètres est atteinte et que l'affichage passe de **Tempering** à **Ready**, vous pouvez passer à la mesure. Pendant la mesure : • Vous pouvez abandonner la mesure avant la fin à l'aide de la touche programmable [Stop]. Affichage du résultat : • Graphique avec affichage de l'absorbance-temps et droite de régression. • Valeur de "A/min" calculée à partir de la régression linéaire. Données complémentaires (touche programmable [Data]) : • Paires de valeur d'absorbance-temps pour le premier et le dernier point de la mesure. • Paramètres de qualité pour la régression linéaire • Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◄ et ►. • Dans l'étape **process results**, modifiez éventuellement l'intervalle de temps utilisé pour l'évaluation avec régression linéaire.
Multi λ		Affichage du résultat : • Absorbances aux longueurs d'onde de mesure Données complémentaires (touche programmable [Data]) : • Uniquement en cas de dilution ou cuve autre que 10 mm : valeurs d'absorbance avant la conversion.

Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Scan		Affichage du résultat : • Balayage (graphique avec affichage de la longueur d'onde de l'absorbance) • Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◄ et ►.
Groupe principal *Routine*		
Nucleic acids		Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec absorbance à la longueur d'onde de mesure • À condition d'être activé dans les paramètres : rapport A260/A280 • À condition d'être activé dans les paramètres : balayage. Naviguez entre les points de mesure du graphique pouvant servir au calcul du résultat, avec ◄ et ►. Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si les paramètres pertinents ont été activés : • Valeur d'absorbance à 280 nm. • Rapport A260/A230 et valeur d'absorbance pour 230 nm. • Valeur d'absorbance pour la longueur d'onde d'arrière-plan.

Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Proteins direct UV		Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec absorbance à la longueur d'onde de mesure • À condition d'être activé dans les paramètres : balayage. Naviguez entre les points de mesure du graphique pouvant servir au calcul du résultat, avec ◀ et ▶. Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si les paramètres pertinents ont été activés : • Valeur d'absorbance à 260 nm. • Valeur d'absorbance pour la longueur d'onde d'arrière-plan.
Proteins (with reagent)		Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec l'absorbance à la longueur d'onde de mesure. • Lors de l'évaluation d'une série standard : graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.

Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Dye labels		Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec absorbance à la longueur d'onde de mesure de la biomolécule. • À condition d'être activé dans les paramètres : balayage. Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◄ et ►. Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si les paramètres pertinents ont été activés : • Rapport A260/A280 et rapport A260/A230. • Valeurs d'absorbance à 280 nm et 230 nm et pour la longueur d'onde de mesure du colorant. • Valeur FOI. • Valeurs d'absorbance des longueurs d'onde d'arrière-plan. Lors de la mesure des protéines marquées au colorant, les rapports et FOI ne sont pas affichés.
Bacterial density		Affichage du résultat : • Résultat calculé avec l'absorbance de la longueur d'onde de mesure. • À condition d'être activé dans les paramètres : balayage. Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◄ et ►.

Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Groupe principal *Basic*		
Factor, standard	Similaire à *Protein direct UV* (voir ci-dessus)	Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec l'absorbance à la longueur d'onde de mesure.
Calibration curve	Similaire à *Proteins (with reagent)* (voir ci-dessus)	Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec l'absorbance à la longueur d'onde de mesure. • Graphique de l'évaluation standard avec affichage du résultat de l'échantillon.
Simple kinetics		Avant la mesure : • Étape de la méthode **check parameters**: affichage de la thermostatisation. Dès que la température définie dans les paramètres est atteinte et que l'affichage passe de **Tempering** à **Ready**, vous pouvez passer à la mesure. Affichage du résultat : • Résultat de la concentration avec absorbance ou/et A/min à la longueur d'onde de mesure. • Uniquement pour le procédé "linear regression" : graphique avec affichage de l'absorbance-temps et droite de régression enregistrée. Naviguez entre les points de mesure du graphique avec ◀ et ▶. Données complémentaires (touche programmable [Data]). Suivant le procédé de mesure : • Paires de valeurs de l'absorbance-temps pour le premier et le dernier point de mesure (procédé "endpoint" : uniquement un point de mesure). • Paramètre de qualité pour la régression linéaire (ne s'applique pas aux vitesses avec une pente inférieure à 0,050 E/min).

Groupe de méthodes	Affichage du résultat	Explication
Groupe principal *Advanced*		
Dual wavelength		Affichage du résultat : • Résultat de la concentration : calcul effectué à partir de $\mathbf{A_{calc.}}$ avec évaluation avec facteur ou standard. • $\mathbf{A_{calc.}}$: calcul effectué avec la formule définie dans les paramètres, à partir des absorbances mesurées aux deux longueurs d'onde. • Valeurs de l'absorbance mesurées aux deux longueurs d'onde. Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si les paramètres pertinents ont été activés : • Valeur d'absorbance pour la longueur d'onde d'arrière-plan.
Advanced kinetics	Similaire à *Simple kinetics* (voir ci-dessus).	Complète les données du groupe de méthodes **Simple kinetics**: Données complémentaires (touche programmable [Data]). Si le paramètre pertinent est activé : • Absorbance et/ou A/min pour le réactif Blank.

6.4.5 process results

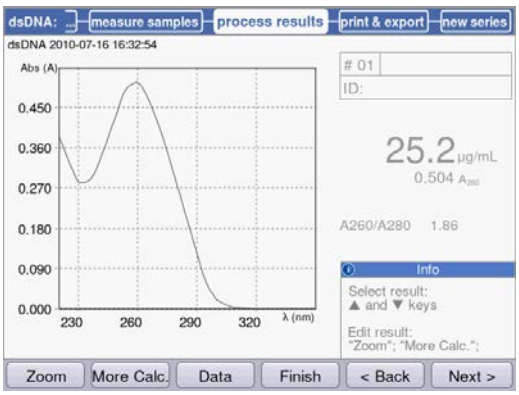
La mesure de l'échantillon est suivie de deux étapes non obligatoires : **process results** et **print & export**.

Dans l'étape **process results**, vous pouvez ajuster les résultats de certaines méthodes. Exemple : modification de l'extrait du spectre de balayage.

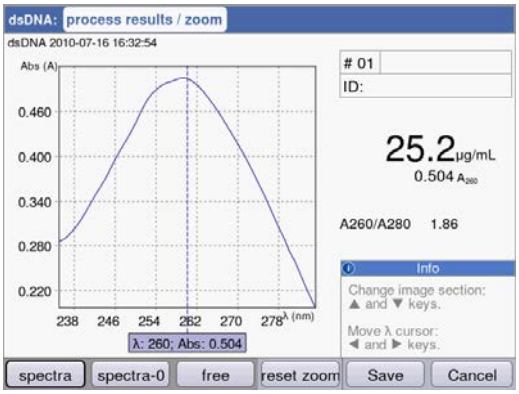
Comme dans l'affichage des résultats, vous pouvez naviguer entre les résultats de l'échantillon avec les touches curseur ▲ et ▼ pour sélectionner certains résultats à réajuster.

Tab. 6-3: Options : Vue d'ensemble

Option	Explication	Disponible dans la méthode
Zoom	Modifier la limite des axes dans les graphiques des longueurs d'onde d'absorbance afin d'afficher uniquement les sections agrandies du graphique.	En règle générale, s'applique à toutes les méthodes pour lesquelles le paramètre **Scan** est proposé et activé. • **Multi λ** • **Scan** • **Nucleic acids** • **Proteins direct UV** • **Dye labels**
More calculations	Conversion des résultats de la concentration en concentrations molaires et (après la saisie du volume) en quantités totales.	• **Nucleic acids** • **Dye labels** (avec acides nucléiques comme biomolécule)
Peak detection	Identification des pics dans les spectres de longueurs d'onde d'absorbance.	• **Scan**
Linear regression	Modifier l'intervalle de temps pour l'évaluation d'une vitesse par régression linéaire.	En règle générale, toutes les méthodes des vitesses ayant utilisé le procédé de mesure "Linear regression". • **Single λ** • **Simple kinetics** • **Advanced kinetics**

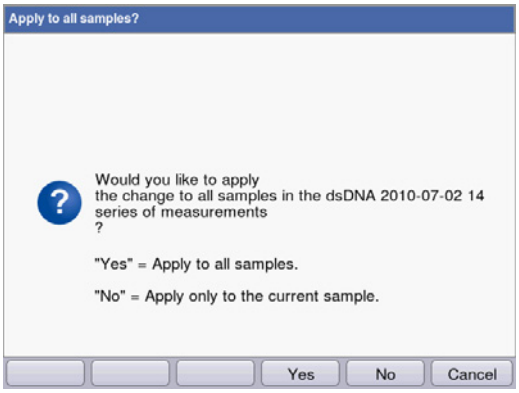


Les options d'ajustage du résultat sont proposées sur les deux touches programmables de gauche. Dans cet exemple : [Zoom] et [More Calculations].



Après les modifications, vous pouvez quitter le mode actuel avec les deux touches programmables de droite :

- [Save]: sauvegarder la modification et retourner à l'étape **process results**.
- [Cancel]: abandonner et retourner à l'étape **process results**.

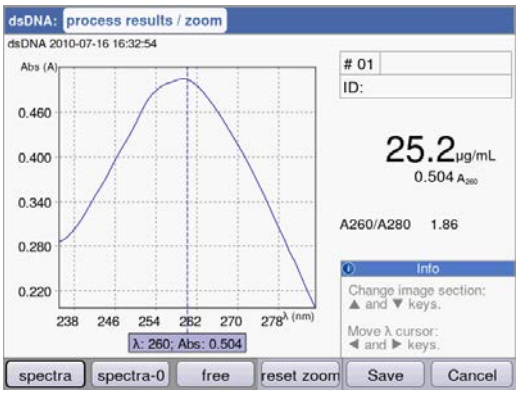

Apply to all samples?
Would you like to apply
the change to all samples in the dsDNA 2010-07-02 14
series of measurements
?
"Yes" = Apply to all samples.
"No" = Apply only to the current sample.
Yes
No
Cancel

Après l'enregistrement des modifications, faites [Yes] pour les transmettre à tous les échantillons de la série.

6.4.6 process results: Options

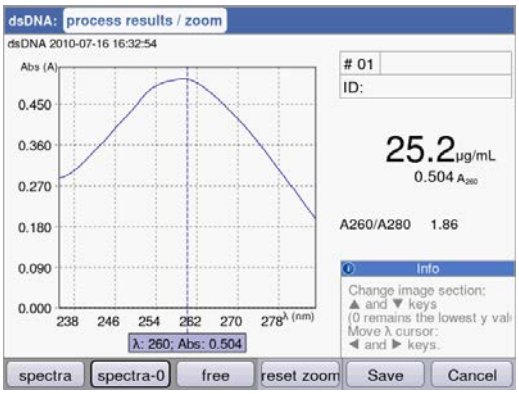
Zoom

Pressez la touche programmable [Zoom] et sélectionnez l'une des variantes suivantes.

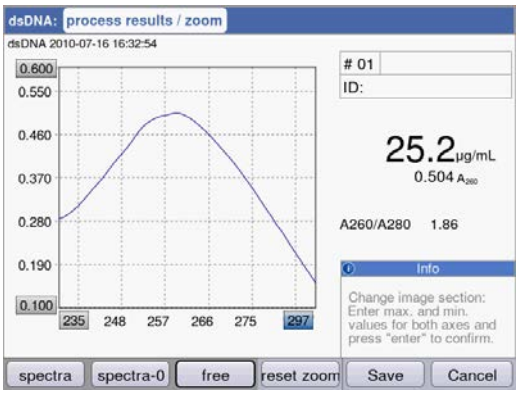


Variante [spectra]:

- Touches curseur ◄ et ►: déplacer le curseur sur les longueurs d'onde. Il détermine le centre du zoom appliqué à l'axe x.
- Touches curseur ▲ et ▼: agrandir et réduire progressivement la section de l'axe x affichée en recourant au procédé SpectraZoom.
  La section de l'axe y affichée est adaptée automatiquement à chaque étape de manière à obtenir une exploitation optimale du maximum et du minimum des données à représenter.



Variante [spectra]:
Correspond à la variante [spectra] pourvue de l'exception:
La limite inférieure de la section de l'axe y représentée correspond toujours à "0 A".

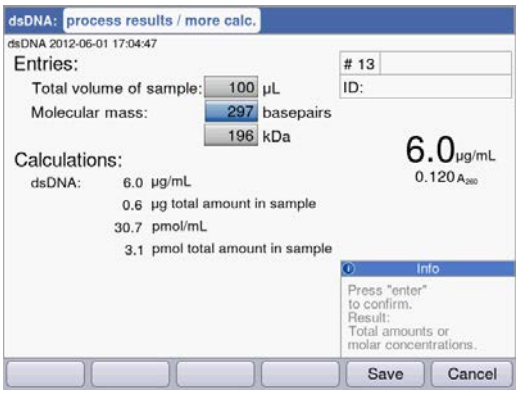


Variante [free]:
Les limites d'intervalle des deux axes sont saisies librement.
Navigation entre les champs de saisie avec les touches curseur (▲, ▼ ◄, ►).

Dans ces 3 variantes, la touche programmable [reset zoom] permet de rétablir la représentation initiale du spectre.

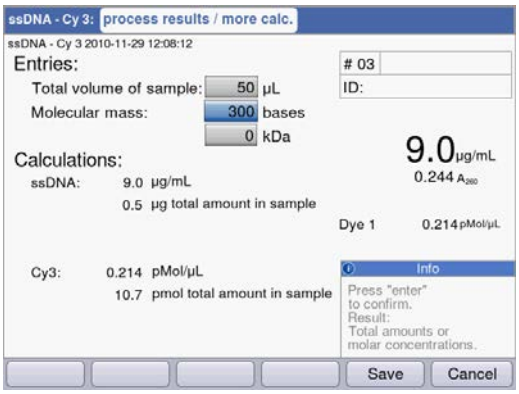
More calculations

Pressez la touche programmable [More calc.].



Groupe de méthodes **Nucleic acids**:

- Après la saisie de la masse molaire (ou des bases/ paires de base ou kDa) : convertir le résultat de la concentration en concentration molaire.
- Après la saisie du volume de l'échantillon : calculer la quantité totale dans l'échantillon.



Groupe de méthodes **Dye labels**:
Acide nucléique:

- Après la saisie de la masse molaire (ou des bases/ paires de base ou kDa) : convertir le résultat de la concentration en concentration molaire.
- Après la saisie du volume de l'échantillon : calculer la quantité totale dans l'échantillon.

Colorant:

- Après la saisie du volume de l'échantillon : calculer la quantité totale dans l'échantillon.

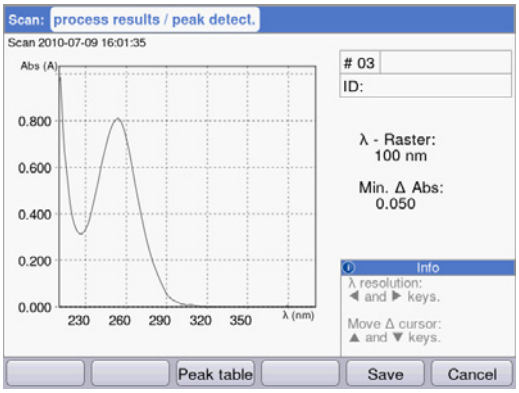
- Pour **dsDNA**, la concentration molaire est calculée avec une acide nucléique à double brin. Pour les méthodes **ssDNA**, **RNA** et **Oligo**, on supposera une acide nucléique à simple brin.
- Pour les méthodes qui ont été reprogrammées dans le groupe principal ***Routine***, groupe **Nucleic acids** via **<New Method>**, la concentration molaire sera toujours calculée à partir d'acides nucléiques à double brin.

Peak detection

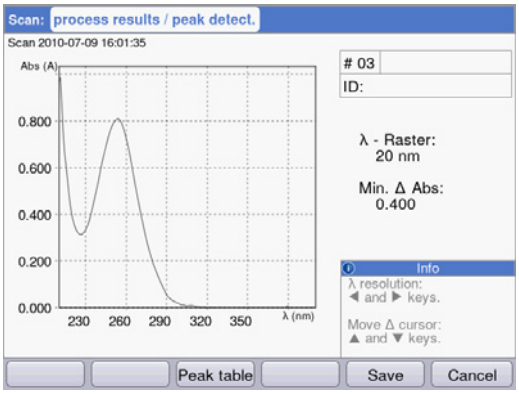
Pressez la touche programmable [Peaks]. Pour identifier le pic, vous choisissez entre deux critères :

- **Trame λ**: trame d'évaluation de la détection du pic sur l'échelle de longueurs d'onde (par ex. 10 nm). Exemple 10 nm: l'extrait du spectre de -5 nm à +5 nm est évalué en prenant référence sur le pic à identifier.
- **Écart min. Δ** : différence minimum entre le pic à identifier et l'absorbance la plus faible de la trame d'évaluation. Parallèlement, aucune absorbance de la trame ne devra être supérieure à la valeur du pic (par ex. : 0.5).

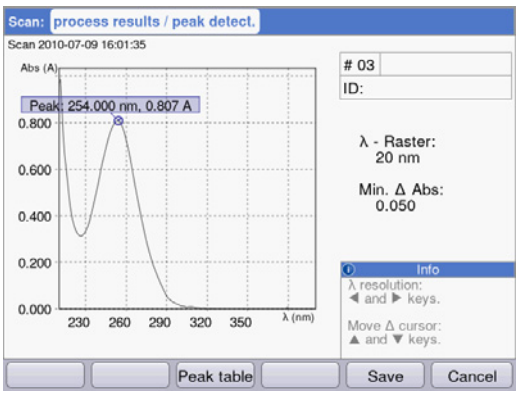
Exemples :



Trame λ : 100 nm, écart Δ min. : 0,050 :
Le pic n'est pas identifié car la trame λ est trop grande : les absorbances au bord de gauche de la trame sont supérieures à l'absorbance du pic.



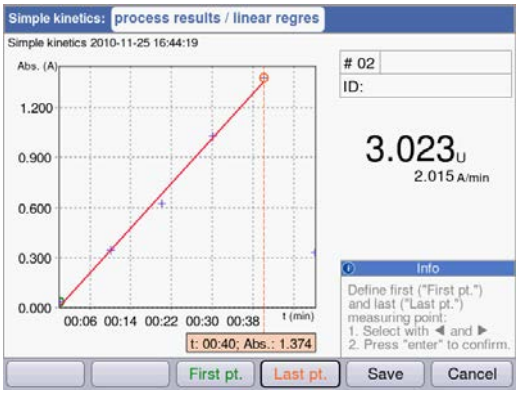
Trame λ : 20 nm, écart Δ min. : 0,200 :
Le pic n'est pas identifié car la valeur prescrite pour **Écart min Δ** est trop élevée. La différence entre l'absorbance du pic et l'absorbance minimum de la trame est inférieure à 0,2 A.



Trame λ : 20 nm, écart Δ min. : 0,050 :
Le pic est identifié.

Linear regression

Pour les procédés cinétiques évalués à l'aide du procédé "Régression linéaire", vous pouvez définir ultérieurement les débuts et les fins de l'évaluation par régression dans l'étape **process results**.



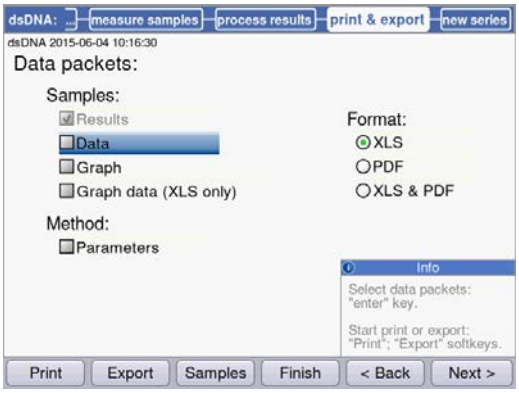
Sélection des points de mesure

- Touche programmable [First pt.] : définissez le premier point de mesure nécessaire à l'évaluation par régression. Sélectionnez le point de mesure avec ◀ et ▶. Confirmez par **enter**.
- Touche programmable [Last pt.] : définissez le dernier point de mesure en vue de l'évaluation par régression. Sélectionnez le point de mesure avec ◀ et ▶. Confirmez par **enter**.
- Le résultat est redéfini parallèlement à la modification des moments. Pour ce faire, la valeur à blanc du réactif est également redéfinie dans le nouvel intervalle de temps.

6.4.7 print & export

Dans la dernière étape optionnelle de la méthode, vous pouvez constituer des paquets de données pour tous les échantillons ou pour une sélection d'échantillons d'une série de mesures :

- pour l'impression sur l'imprimante
- pour l'exportation sur une clé USB
- pour l'exportation directe vers un PC via un câble USB
- pour l'exportation par e-mail



Sélection de paquets de données

- Naviguez avec les touches curseur et confirmez par **enter**.

Sélectionner un format

- XLS : exporter et imprimer sous forme de tableau Excel.
- PDF : exporter et imprimer sous forme de pdf.

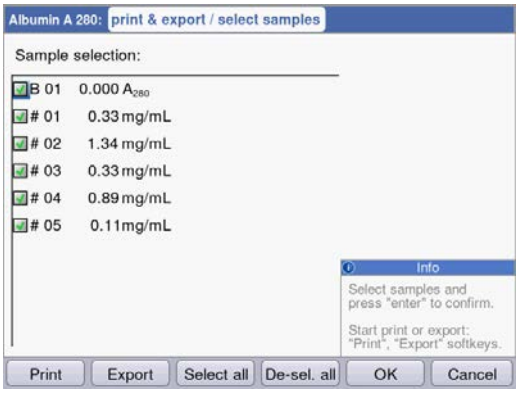
Touches programmables

- [Print] : démarrer l'impression.
- [Export] : démarrer l'exportation.
- [Sample] : sélectionner certains résultats.

Sélection de paquets de données	
Results	Données de résultats primaires ; sans sélection car elles sont toujours transmises.
Data	Données de résultats supplémentaires qui sont affichées parmi les résultats pendant la mesure, en pressant la touche programmable [Data].
Graph	Spectre de longueurs d'onde d'absorbance. (Uniquement sur les méthodes de vitesses utilisant le procédé "Régression linéaire" : graphique d'absorbance-temps.)
Graph data	Les données de base numériques du graphique. "export only" : uniquement pour l'exportation et non pour l'impression.
Parameters	Paramètres des méthodes
Standards/Results	Données de résultats de l'évaluation standard.
Standards/Graph	(Uniquement pour les évaluations standards effectuées avec plusieurs standards :) graphique d'absorbance-concentration.

Suivant la méthode et le réglage des paramètres, seuls les paquets de données disponibles sont proposés.

Sélection de résultats



Sélection des échantillons

- Pressez la touche programmable [Samples] pour appeler la sélection des échantillons.
- Naviguez avec les touches curseur et confirmez par **enter**.

Touches programmables

- [Select all] : sélectionner tous les échantillons
- [De-Sel. all] : résilier la sélection.

Démarrage de l'exportation

Les données sont transmises sous forme de fichier Excel (.xls) ou PDF. Les fichiers Excel sont lisibles avec le programme Excel 97 et ses versions ultérieures. Le système crée un tableau Excel pour chacun des paquets de données sélectionnés. Le nom du fichier est constitué du nom de la méthode, de l'heure et de la date de la série de mesures.

File export: dsDNA_2015_06_04_10_16_30.xls
Select an export method:
Export to external storage medium
Export to PC
Send to an e-mail address
email@example.com
Info
External storage medium: Connect an USB mass storage device.
Export PC: The device works as an USB mass storage device.
Export
Cancel

Sélection de la variante d'exportation

- Naviguez avec les touches curseur et confirmez par **enter**.
- Export to external storage medium : enregistrer les données sur un stick USB.
  S'il n'y a pas de clé USB connectée, cette variante n'est pas disponible.
- Export to PC : enregistrer les données sur un PC.
- Export via email : envoyer les données à une adresse de courriel.

Exportation sur clé USB

1. Connectez une clé USB, format FAT-32, au port USB **4** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.
2. Démarrez avec [Export] l'"export vers un support de sauvegarde".

Exportation sur PC

Logiciel d'exploitation du PC : Windows XP, SP2 ou une version supérieure.

1. Connectez le câble USB de l'appareil au port USB du PC **8** (voir *Illustration d'ensemble à la page 17)*.
2. Avant de renouveler l'exportation, vérifiez que les données auparavant exportées ont été enregistrées sur le disque dur du PC, sans quoi elles seront recouvertes.
3. Démarrez l''exportation vers le PC" avec [Export].
4. Le paquet de données exporté est affiché sur votre PC sous forme de disque amovible portant le nom "eppendorf". Ouvrez le fichier figurant sur ce lecteur et enregistrez-le sur le disque dur.

Exportation vers une adresse de courriel

1. Sélectionnez une adresse de courriel dans la liste ou sélectionnez "Edit" pour créer une nouvelle adresse de courriel.
2. Démarrez avec [Export] l'"envoi à une adresse de courriel".

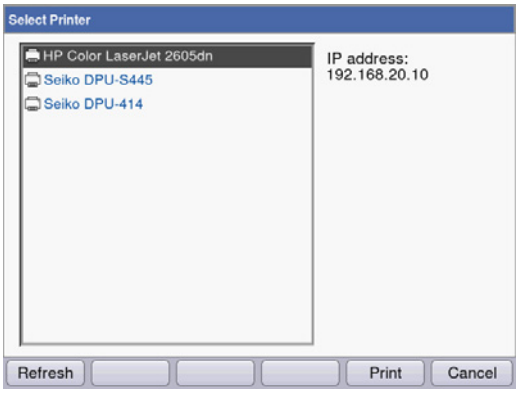
Modifier les adresses de courriel

- Sélectionnez "Edit" dans la liste déroulante et confirmez avec **enter**.
  Une fenêtre s'ouvre, dans laquelle vous pouvez modifier les adresses de courriel.
- [Edit] : modifier l'adresse de courriel.
- [New] : créer une nouvelle adresse de courriel.
- [Delete] : effacer l'adresse de courriel.

Démarrage de l'impression

Les données peuvent être imprimées sur une imprimante du réseau ou sur une imprimante USB raccordée.

Lorsque l'appareil est connecté à un réseau, toutes les imprimantes compatibles du réseau sont détectées et s'affichent automatiquement. Lorsqu'il n'y a aucune connexion au réseau, seule une imprimante USB raccordée est sélectionnable.

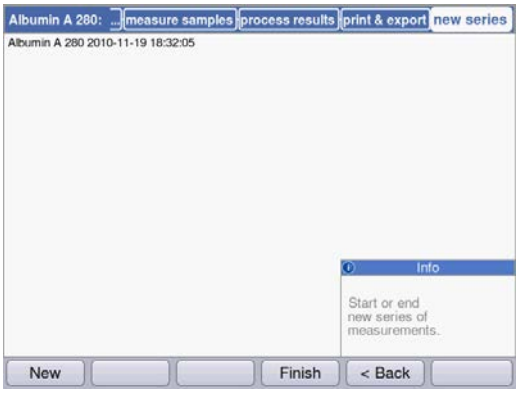


1. Sélectionnez une imprimante.
2. Démarrez avec [Print] l'impression des données.

6.4.8 Clôturer la série de mesures

Après la dernière étape **print & export**, vous pouvez lancer une nouvelle série de mesures avec la méthode choisie ou sélectionner une nouvelle méthode.

Clôturer une série de mesures et lancer une nouvelle série



- Touche programmable [Next >] : appeler l'étape **new series**
- Touche programmable [New] : appeler l'étape **measure samples** et lancer une nouvelle série de mesures.

Clôturer la série de mesures et sélectionner une nouvelle méthode

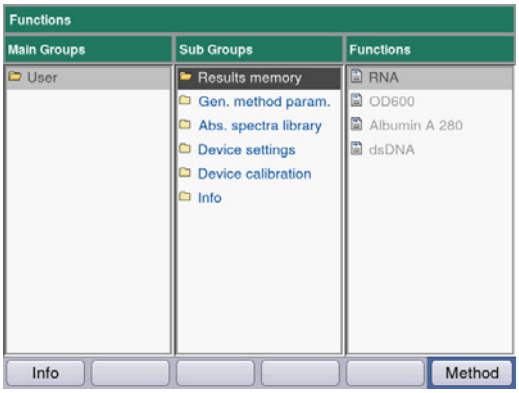
- Touche programmable [Finish] : clôturer la série de mesures et appeler le choix de méthodes.

7 Fonctions

7.1 Fonctions du groupe principal *User*

Utilisez la touche **function** ou la touche programmable [Function] pour accéder à un menu de fonctions comme les paramètres de l'appareil ou appeler les résultats enregistrés.

Les fonctions sont structurées de manière similaire à la méthode, c'est-à-dire en 3 colonnes. Vous accédez aux fonctions dans le groupe principal ***User***. Comme pour une méthode, vous naviguez à l'aide des touches curseur afin de sélectionner le sous-groupe désiré puis allez dans la colonne de droite pour y choisir la fonction demandée. Appelez la fonction avec **enter**.

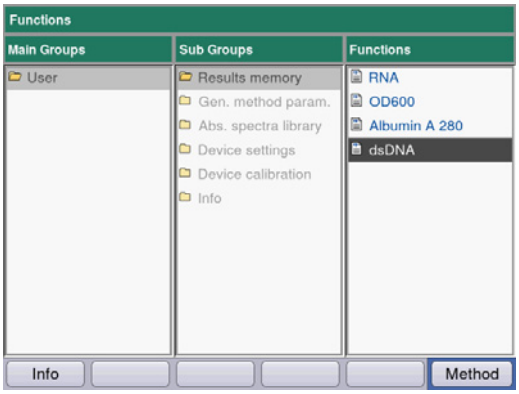


Touche programmable [Info]: appel de la version du micrologiciel et du numéro de série du BioSpectrometer kinetic.

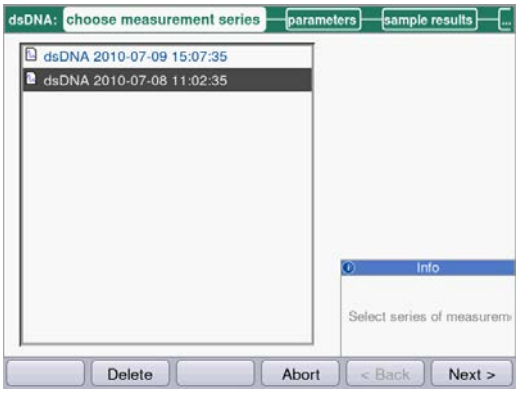
Tab. 7-1: Vue d'ensemble des fonctions

Sous-groupe	Explication
Results memory	Affichage des résultats enregistrés. Les résultats sont classés et appelés d'après la méthode et la série de mesures utilisées. Ils peuvent être directement imprimés et exportés à partir de la mémoire.
General method parameters	Les paramètres généraux utilisés pour différentes méthodes sont enregistrés de manière centrale dans la partie **Functions**. Ces paramètres peuvent être édités (modifiés ou recréés) ici. Dans l'étape **Check parameters** de la méthode, les paramètres généraux sont alors sélectionnés via les cases à cocher. • **Proteins**, **Nucleic acids**, **Dyes** contiennent les paramètres utilisés dans les méthodes du groupe **Dye labels** et **Proteins direct UV**. • **Units** : unités des résultats de la concentration, applicables à de nombreuses méthodes.
Absorbance spectra library	Spectres de longueurs d'onde d'absorbance de substances importantes, par ex. ADN. Les spectres contiennent des informations utiles et peuvent servir à comparer le spectre du résultat d'un échantillon.
Device settings	Réglages saisis dans l'appareil, par ex. langue.
Device calibration	• Possibilité de contrôle du spectro-photomètre. Vous avez alors besoin d'un kit de filtres Eppendorf. • Possibilité de contrôle du module thermique.
Info	Licences Open-Source et informations sur la marque déposée.

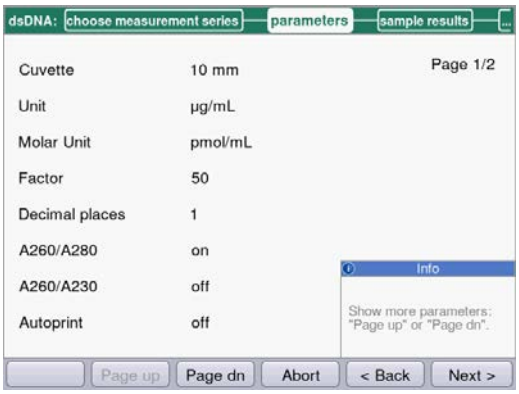
7.1.1 Results memory



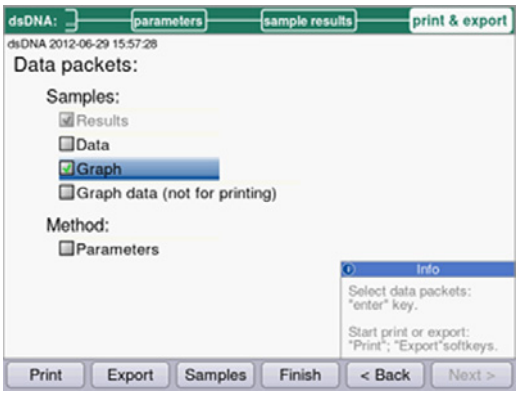
- Dans la colonne de droite, sélectionnez la méthode dont vous désirez appeler les résultats enregistrés.
- Confirmez par **enter**.



- Sélectionnez la série de mesures désirée avec les touches curseur.
- Confirmez par **enter**.



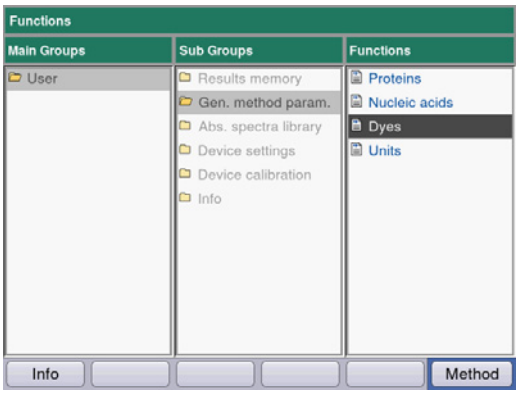
Comme dans le déroulement de la méthode, vous pouvez passer successivement dans les affichages des paramètres, des standards, des résultats et enfin des paquets de données en vue de l'impression et de l'exportation.
Les touches programmables sont similaires au déroulement.



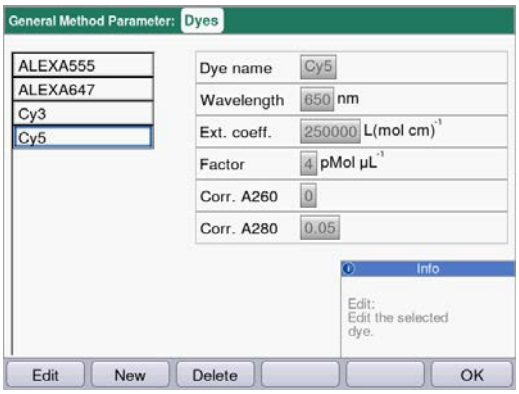
- Si vous désirez imprimer ou exporter des résultats, sélectionnez les paquets de données.

Le déroulement de l'impression et de l'exportation ainsi que la signification des touches de fonction correspondent à l'étape **print & export**.

7.1.2 General method parameters



- Dans la colonne de droite, sélectionnez le groupe de paramètres que vous désirez éditer.
- Confirmez par **enter**.

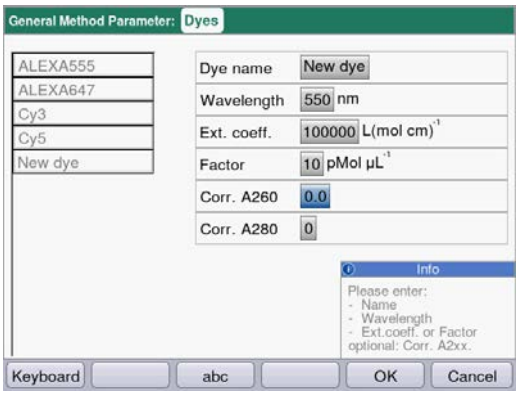


Dans cet exemple, les groupes de paramètres sont résumés pour différents colorants (composants des méthodes Dye) et enregistrés sous un nom. Le groupe de paramètres désiré peut être importé sous ce nom dans le programme de la méthode, lors de l'édition d'une méthode Dye.
Affichage :

- à gauche : nom du colorant. Sélectionnez avec ▲ et ▼.
- à droite : paramètres pertinents

Touches programmables

- [Edit] : éditer le groupe de paramètres sélectionné.
- [New] : créer un nouveau groupe de paramètres.
- [Delete] : supprimer le groupe de paramètres sélectionné.
- [OK] : retourner à la sélection des fonctions.

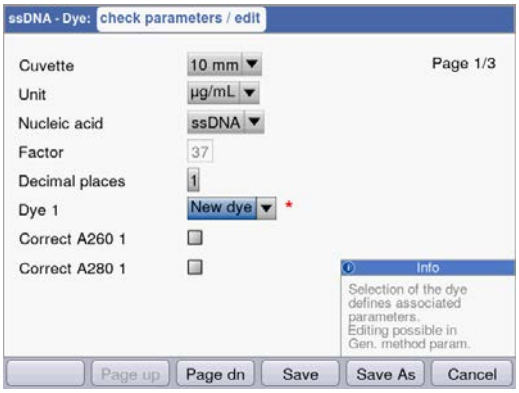


- Pour éditer un groupe de paramètres, sélectionnez le paramètre à éditer avec ▲ et ▼.
- Confirmez par **enter**.

Touches programmables

- [OK] : sauvegarder l'entrée et retourner à la sélection du groupe de paramètres.
- [Cancel] : retourner dans la sélection du groupe de paramètres, sans faire de modification.

Lors de la programmation d'une méthode des groupes **Dye labels** ou **Proteins direct UV**, vous pouvez accéder aux entrées dans **General Method Parameter** :



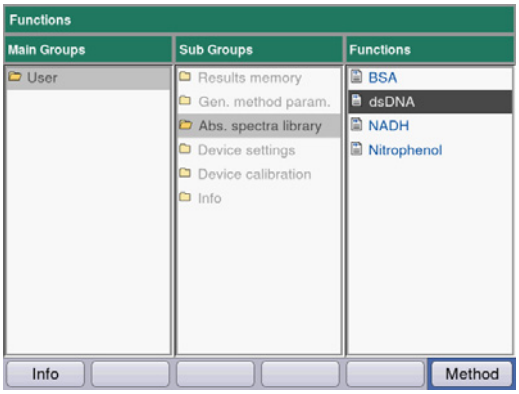
Sélectionnez le nom du colorant pour importer le groupe de paramètres pertinent dans le programme. Faites "edit" dans le paramètre "Nucleic acid" pour accéder directement à la fonction **General Method Parameter** et visualiser ou éditer les paramètres.

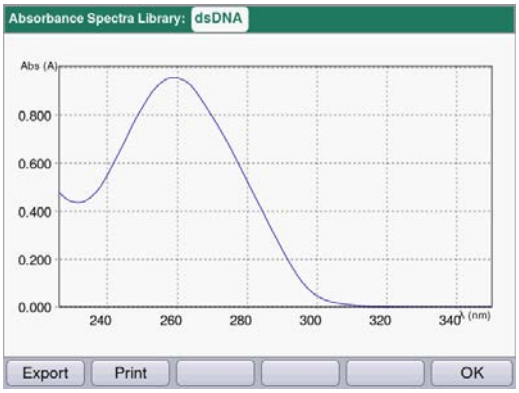
Tab. 7-2: Paramètres dans General Method Parameter

Paramètre	Explication
Proteins	Ces paramètres sont téléchargés dans la méthode lors de la sélection d'une protéine, avec programmation d'une méthode du groupe **Dye labels** et **Proteins direct UV**.
• Protein name • Factor • $A_{0,1\%}$ • Ext.coeff. • Molecular mass	Outre le nom et la longueur d'onde, vous pouvez saisir les données suivantes pour définir le facteur nécessaire au calcul de la concentration à partir de l'absorbance : facteur **ou** $A_{0,1\%}$ **ou** coefficient d'absorbance et masse molaire.
Nucleic acids	Lors de la sélection d'un acide nucléique, ces paramètres sont téléchargés dans la méthode du groupe **Dye labels**.
• NA name • Factor • Double-stranded	Le facteur est utilisé pour calculer la concentration à partir de l'absorbance. Le paramètre Double-stranded influence le calcul de la concentration d'acide nucléique (voir *Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques à la page 112)*
Dyes	Lors de la programmation d'une méthode du groupe **Dye labels**, ces paramètres sont téléchargés dans la méthode en sélectionnant un colorant (Dyes).
• Dye name • Wavelength • Ext.coeff. • Factor • Corr. A260 • Corr. A280	Outre le nom, vous définissez le facteur nécessaire au calcul de la concentration à partir de l'absorbance en saisissant les données suivantes : facteur **ou** coefficient d'extinction. Les facteurs de correction de l'absorbance mesurée à 260 ou 280 nm sont utilisés lorsque la fonction de correction est activée dans les paramètres de la méthode. Pour en savoir plus, veuillez consulter le chapitre sur l'évaluation (voir *Correction A_{260} et correction A_{280} à la page 111)*.
Units	À partir des unités proposées, vous en sélectionnez une lors de la programmation des paramètres d'une méthode.
• Unit	Saisissez une unité non programmée pour le résultat de la concentration.

- Vous déterminez les données caractéristiques des protéines qui n'ont pas été pré-programmées en usine, dans la base de données expasy : http://www.expasy.org/tools/protparam.html.
- Vous trouverez également un tableau avec les valeurs $A_{1\%}$ de nombreuses protéines dans : C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (tableau 5). Les valeurs $A_{1\%}$doivent être multipliées par 0,1 pour obtenir les valeurs $A_{0,1\%}$ nécessaires.

7.1.3 Absorbance spectra library



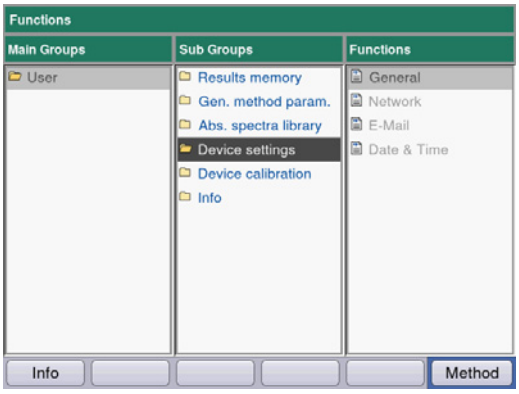


Dans la colonne de droite, sélectionnez le spectre à activer et confirmez par **enter**.

Touches programmables

- [Export] et [Print] : exporter sur une clé USB ou par câble USB et/ou imprimer (voir *print & export à la page 65)*.
- [OK] : retourner à la sélection des fonctions.

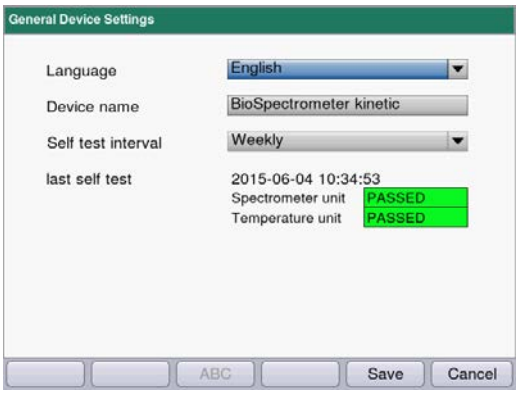
7.1.4 Device settings



Les réglages suivants peuvent être modifiés :

Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

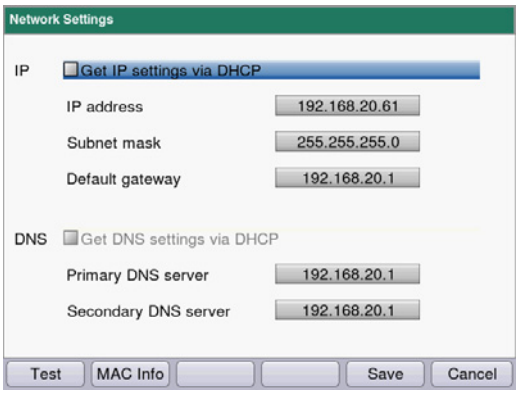


General Device Settings

- Sélectionner la langue : allemand, anglais, français, espagnol, italien.
- Nom de l'appareil
- Fréquence de l'auto-test automatique après la mise en marche de l'appareil.
- Des informations sur le dernier auto-test sont affichées.

Touches programmables

- [Save] : sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : retourner dans la sélection du groupe de paramètres, sans faire de modification.



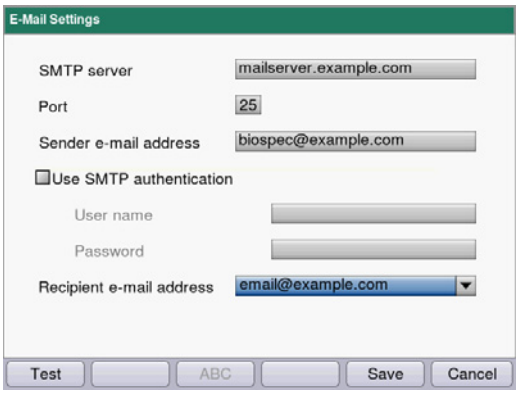
Network Settings

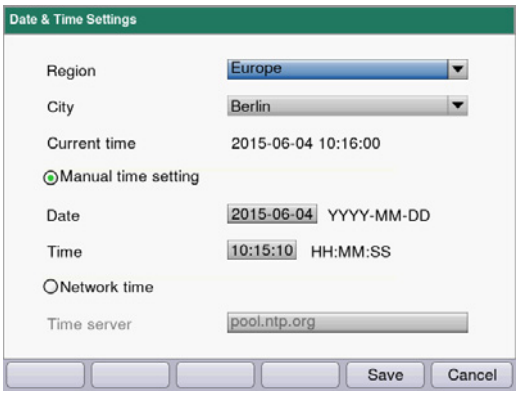
Demandez à votre administrateur réseau quels sont les réglages requis.

- Permez de choisir si les réglages IP doivent s'effectuer automatiquement par DHCP. Les réglages IP peuvent également être saisis manuellement.
  - Adresse IP
  - Masque de sous-réseau
  - Passerelle par défaut
- Permet de choisir si les réglages DNS doivent s'effectuer automatiquement par DHCP (disponible uniquement lorsque les réglages IP sont attribués automatiquement par DHCP). Les réglages DNS suivants peuvent être saisis manuellement :
  - Serveur DNS primaire
  - Serveur DNS secondaire

Touches programmables

- [MAC Info] : informations sur les réglages du réseau.
- [Save] : sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : retourner dans la sélection du groupe de paramètres, sans faire de modification.





E-Mail Settings

Demandez à votre administrateur réseau quels sont les réglages requis.

- SMTP Server: saisir le serveur de messagerie.
- Entrer le port.
- Expéditeur : saisir les noms des appareils.
- Utiliser l'authentification SMTP : si une authentification est nécessaire, un nom d'utilisateur et un mot de passe doivent être attribués.
- Adresse de courriel du destinataire : liste des adresses de courriel.

Modifier les adresses de courriel

- Sélectionnez "Edit" dans la liste déroulante et confirmez avec **enter**.
  Une fenêtre s'ouvre, dans laquelle vous pouvez modifier les adresses de courriel.

Touches programmables

- [Edit] : modifier l'adresse de courriel.
- [New] : créer une nouvelle adresse de courriel.
- [Delete] : effacer l'adresse de courriel.

Date and Time Settings

- Sélectionner une région.
- Sélectionner une ville.
- Affichage de l'heure actuelle
- Réglage manuel de l'heure : saisir la date et l'heure.
- Heure du réseau
  Zeitserver : saisir le serveur de temps souhaité.

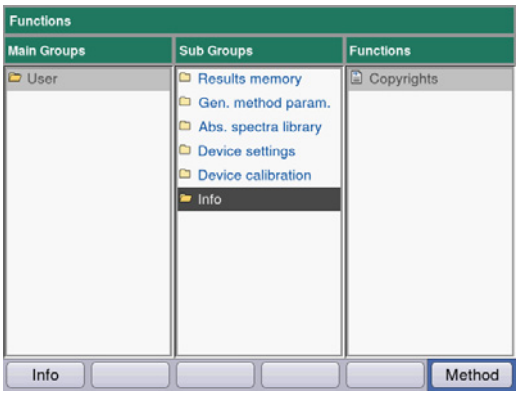
Touches programmables

- [Save] : sauvegarder les modifications et retourner dans la sélection des fonctions.
- [Cancel] : retourner dans la sélection du groupe de paramètres, sans faire de modification.

7.1.5 Device calibration

L'étalonnage est décrit séparément (voir *Contrôle de l'appareil à la page 81)*.

7.1.6 Info



Au point du menu **Copyright**, vous trouverez des informations sur la licence du logiciel Open-Source.

8 Entretien

8.1 Nettoyer

DANGER ! Électrocution à cause de liquides pénétrant dans l'intérieur.

- Déclenchez l'appareil et séparez-le du secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
- Ne pas laisser pénétrer des liquides dans l'intérieur du boîtier.
- Ne pas nettoyer le boîtier avec du spray nettoyant ou du spray désinfectant.
- Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.

AVIS ! Corrosion à cause de détergents et de désinfectants agressifs.

- Ne pas utiliser ni de détergents caustiques ni de dissolvants agressifs ni de produits de polissage abrasifs.
- Ne pas incuber les accessoires longtemps dans des détergents ou désinfectants agressifs.

1. Essuyez les surfaces avec un chiffon imprégné d'un détergent doux.

Nettoyage du puits de la cuve

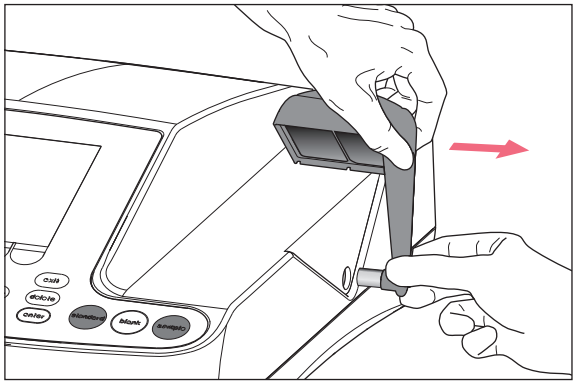
2. Ne nettoyez le puits de la cuve qu'avec des cotons-tiges non pelucheux imprégnés d'éthanol ou d'isopropanol. Évitez les pénétrations de liquide dans le puits de cuve. S'il était nécessaire de travailler à l'eau pour éliminer les salissures, imprégnez ensuite un coton-tige d'éthanol ou d'isopropanol et frottez pour accélérer le séchage du puits de la cuve.

8.1.1 Nettoyage du couvercle du puits de la cuve

Si vous ne désirez pas nettoyer uniquement la surface directement accessible du couvercle de protection posé sur le puits de la cuve, vous pouvez démonter ce couvercle.

- Ne pas immerger le couvercle du puits dans du produit nettoyant.
- Nettoyez le couvercle du puits en procédant comme suit :

1. Soulevez le couvercle posé sur le puits de la cuve d'une main.
2. Posez l'autre main au niveau de la goupille de fermeture et tirez sur le côté droit du couvercle jusqu'à ce que la goupille de fermeture soit entièrement extraite.



- Tirez le couvercle vers la droite en respectant un angle de 90°.

3. Nettoyez le couvercle avec un chiffon ou un coton-tige non pelucheux que vous avez imprégné de produit nettoyant.
4. Glissez à fond la goupille de fermeture dans le boîtier.

   La goupille de fermeture disparaît entièrement dans le boîtier.

Si vous n'utilisez pas le photomètre, posez le couvercle bleu sur le puits de la cuve pour le protéger de la poussière et des autres salissures.

8.2 Désinfection/Décontamination

DANGER ! Électrocution à cause de liquides pénétrant dans l'intérieur.

- Déclenchez l'appareil et séparez-le du secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.
- Ne pas laisser pénétrer des liquides dans l'intérieur du boîtier.
- Ne pas nettoyer le boîtier avec du spray nettoyant ou du spray désinfectant.
- Branchez l'appareil au secteur seulement quand il est complètement sec à l'intérieur et à l'extérieur.

1. Avant de le désinfecter, nettoyez l'appareil avec un produit nettoyant non agressif(voir *Nettoyer à la page 79)*.
2. Choisissez une méthode de désinfection conforme aux dispositions et directives en vigueur pour votre domaine d'application.
3. Utilisez par exemple de l'alcool (éthanol, isopropanol) ou d'autres produits désinfectants à base d'alcool.
4. Passez un chiffon imbibé de produit désinfectant sur les surfaces.
5. Si le couvercle de protection du puits de la cuve doit être démonté pour être désinfecté, procédez au démontage et au montage comme indiqué dans (voir *Nettoyage du couvercle du puits de la cuve à la page 80)*.
6. Vous pouvez désinfecter le couvercle de protection du puits de la cuve avec du spray désinfectant.

8.3 Contrôle de l'appareil

Conditions préalables :

- Respectez les conditions d'environnement (voir *Conditions ambiantes à la page 103)*.
- Réalisez le contrôle à env. 20 °C. Évitez les variations thermiques (p.ex. par l'ouverture de fenêtres).
- Retirez le filtre de la boîte de filtres juste avant usage et protégez-le de la poussière et de tout endommagement de sa surface.
- Protégez le filtre de la poussière, de la chaleur, des liquides et des vapeurs agressives.
- Le filtre est inséré de sorte que l'autocollant avec la désignation du filtre soit tourné vers le détecteur. Lors de la vérification de l'unité de spectromètre: l'autocollant est tourné vers l'avant.
- Le puits de la cuve ne doit pas être encrassé.

8.3.1 Contrôle de l'unité de spectrométrie

Pour contrôler l'exactitude photométrique et l'erreur systématique de longueur d'onde, Eppendorf propose un kit de filtres (kit de filtres de référence BioSpectrometer). Le kit contient un filtre témoin A0 et trois filtres A1, A2 et A3 pour contrôler l'exactitude photométrique ainsi que 3 filtres pour contrôler l'erreur systématique de longueur d'onde dans la plage de 260 nm à 800 nm. Les mesures des extinctions des filtres sont comparées à celles du filtre témoin A0. En plus des informations sur la justesse, vous obtenez également des informations sur la fidélité : en plus de la valeur médiane, le coefficient de variation (valeur CV) est calculé à partir des 15 mesures par longueur d'onde.

Pour la mesure, commencez par positionner le filtre témoin (pour la mesure de la valeur témoin) puis le filtre de contrôle ainsi que les cuves dans le puits de cuve. Les valeurs d'absorbance mesurées pour le filtre de contrôle sont comparées à la plage de valeurs autorisée. Les valeurs limites de la plage autorisée sont imprimées sur chacun des filtres dans un tableau situé dans le couvercle de la boîte de filtres.

Si vous voulez documenter les valeurs, branchez la thermo-imprimante Eppendorf.

BioSpectrometer reference filter set

eppendorf

Function : Device calibration/Spectrometer unit

Order No./Best. Nr.: 6135 928.001
Set No./Satz Nr.: 006

Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C							
SN: 6135	914.006	916.006	917.006	937.006	921.006	922.006	923.006
Filter Type	**Blank A 0**	**Sample 260 nm**	**Sample 280 nm**	**Sample 800 nm**	**Sample A 1**	**Sample A 2**	**Sample A 3**
Limiting values (A)/Grenzwerte (E)							
260 nm	0.000	1.291-1.499	--	--	0.197-0.221	1.078-1.101	1.857-1.888
280 nm	0.000	--	1.041-1.287	--	0.193-0.217	1.024-1.047	1.717-1.749
320 nm	0.000	--	--	--	0.173-0.196	0.923-0.947	1.478-1.509
405 nm	0.000	--	--	--	0.161-0.184	0.903-0.926	1.429-1.461
550 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.930-0.959	1.487-1.526
562 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.941-0.968	1.496-1.530
595 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.943-0.969	1.503-1.538
700 nm	0.000	--	--	--	0.169-0.192	0.935-0.984	1.517-1.570
800 nm	0.000	--	--	0.958-1.124	0.168-0.191	0.931-0.983	1.502-1.561
		Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge			Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers		
Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%)							
260 - 405 nm		≤ 3.0 %			≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 1.5 %
550 - 800 nm		≤ 3.0 %			≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 3.0 %

Wavelength and photometric accuracy/Wellenlängen- und photometrische Richtigkeit
traceable to/rückführbar auf
NIST SRM 2034, SN 04-A und SN 667

Wavelength and photometric characterization of filters:
All characterization is performed on a Cary 100 Bio reference UV-Vis spectrophotometer, SN EL 99023107.
The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications. The current instrument qualification is valid through April 2015.
For the current instrument qualification, the following, NIST traceable, certified secondary spectrometric calibration standards were used:

Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter:
Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Bio Referenz-UV-Vis-Spektrophotometer, Seriennummer EL99023107 durchgeführt.
Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert.
Die aktuelle Qualifizierung ist bis April 2015 gültig und verwendet folgende, NIST-rückführbare und zertifizierte, spektrometrische Sekundärstandards:

Starna RM-0660HLKCSITX
Hellma 666-F1, 666-F2, 666-F3, 666-F4
SRM 2031a: SN 667, valid through/gültig bis 12/2014

The valid certificates are part of the requalification documentation.
Die Gültigkeitszertifikate sind Teil der Qualifizierungsdokumentation.

6135 928.028-00

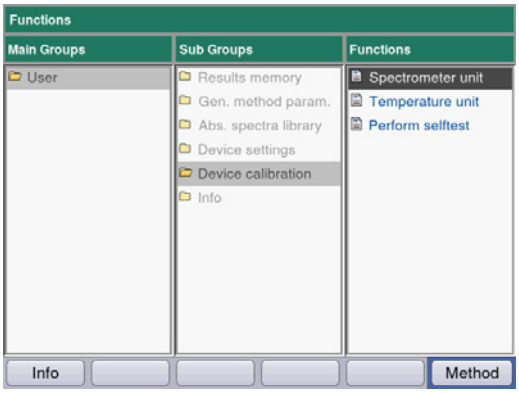
Please protect against dust, heat, cold and liquid.
The limits are valid for max. 2 years.
Bitte vor Staub, Hitze, Kälte und Flüssigkeiten schützen.
Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre.

Date / Datum

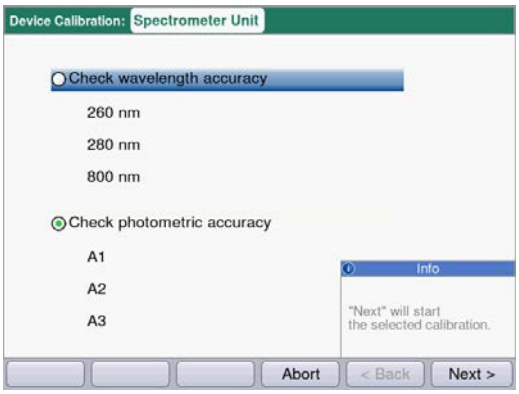
Signature / Unterschrift

Fig. 8-1: Face intérieure du couvercle de la boîte de filtres (modèle)

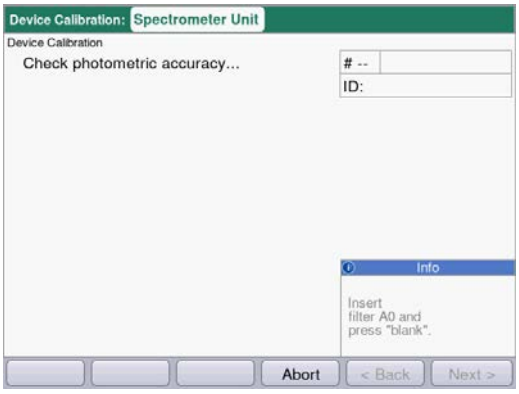
8.3.1.1 Contrôle de l'exactitude photométrique



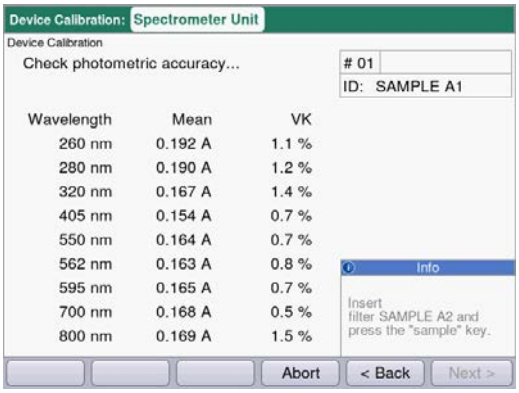
1. Dans le groupe **Device calibration**, sélectionnez la fonction **Spectrometer unit** et confirmez par **enter.**



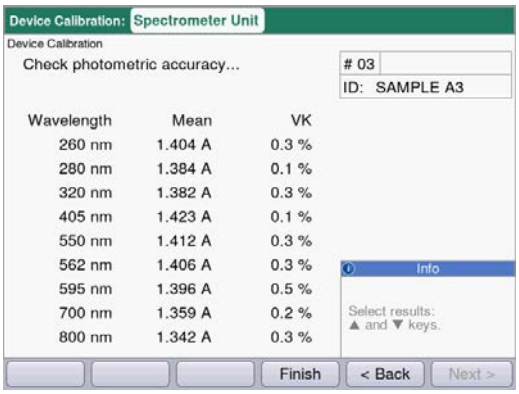
2. Choisissez entre l'erreur systématique de longueur d'onde et l'exactitude photométrique et confirmez par **enter**. Passez à la mesure [Next >].



3. Suivez les instructions affichées sur l'appareil et mesurez le filtre témoin A0 puis le premier filtre de contrôle A1.
   L'appareil mesure 15 fois le filtre de contrôle avec 9 longueurs d'onde et affiche ensuite les moyennes et les valeurs du CV de la série de mesures, pour les 9 longueurs d'onde.


Device Calibration: Spectrometer Unit
Device Calibration
Check photometric accuracy...
01
ID: SAMPLE A1
Wavelength Mean VK
260 nm 0.192 A 1.1 %
280 nm 0.190 A 1.2 %
320 nm 0.167 A 1.4 %
405 nm 0.154 A 0.7 %
550 nm 0.164 A 0.7 %
562 nm 0.163 A 0.8 %
595 nm 0.165 A 0.7 %
700 nm 0.168 A 0.5 %
800 nm 0.169 A 1.5 %
Info
Insert filter SAMPLE A2 and press the "sample" key.
Abort
< Back
Next >

4. Affichage du résultat après la mesure d'un filtre de contrôle visant à tester l'exactitude photométrique.
   Mesurez les deux autres filtres de contrôle A2 et A3.


Device Calibration: Spectrometer Unit
Device Calibration
Check photometric accuracy...
03
ID: SAMPLE A3
Wavelength Mean VK
260 nm 1.404 A 0.3 %
280 nm 1.384 A 0.1 %
320 nm 1.382 A 0.3 %
405 nm 1.423 A 0.1 %
550 nm 1.412 A 0.3 %
562 nm 1.406 A 0.3 %
595 nm 1.396 A 0.5 %
700 nm 1.359 A 0.2 %
800 nm 1.342 A 0.3 %
Info
Select results: ▲ and ▼ keys.
Finish
< Back
Next >

5. Affichage du résultat après la mesure des 3 filtres de contrôle afin de tester l'exactitude photométrique.
   Avec les touches ▲ et ▼, vous pouvez visualiser à nouveau les résultats des différents filtres de contrôle. Avec [Finish], vous terminez le contrôle.

6. Comparez les valeurs médianes et les valeurs du CV avec celles qui sont indiquées dans le tableau. Si les valeurs mesurées ne correspondent pas à la plage de valeurs autorisée prière de s'adresser au S.A.V. Eppendorf.

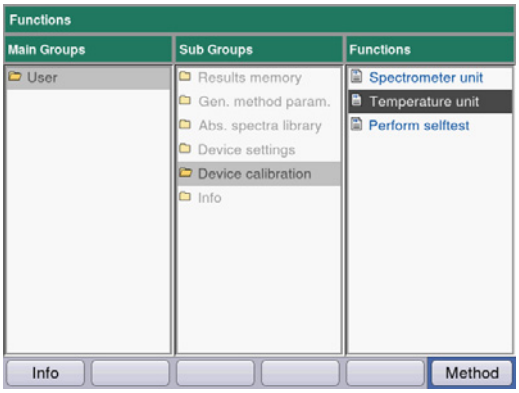
Faites certifier les filtres par le S.A.V. Eppendorf au bout de 2 ans.

8.3.1.2 Contrôle de l'erreur systématique de longueur d'onde

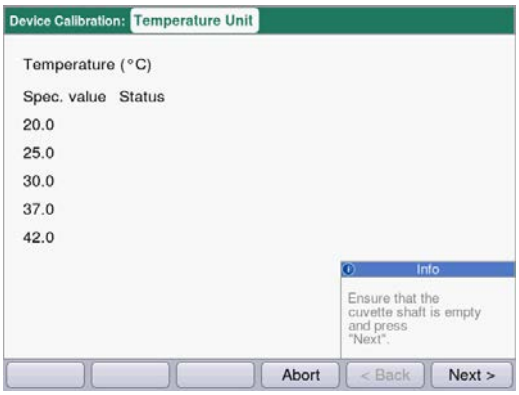
- Pour contrôler l'erreur systématique de longueur d'onde, procédez comme suit : effectuez une mesure avec 3 filtres de contrôle, à la longueur d'onde correspondante.

8.3.2 Contrôle de l'unité de thermostatisation

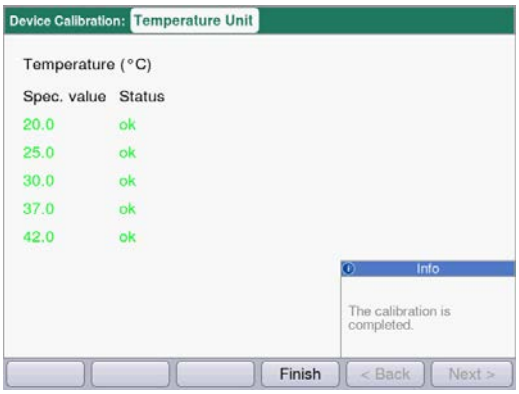
- Réalisez le contrôle à env. 20 °C.
- Vérifiez que le puits de la cuve est vide lors du contrôle.



1. Dans le groupe **Device calibration**, sélectionnez la fonction **Temperature unit** et confirmez par **enter**.



2. Vérifiez que le porte-cuve est vide et démarrez le contrôle avec [Next >].
   Le contrôle de la thermostatisation suivant, effectué avec 5 températures, dure environ 30 minutes. Pendant le contrôle, l'appareil affiche la durée restante calculée.



3. Affichage des résultats après le contrôle.
   Un résultat positif est signalé par "ok" après la valeur de la température. Si l'un des résultats porte la mention "failed" pour au moins une température, veuillez-vous adresser au S.A.V Eppendorf.

8.3.3 Auto-test de l'appareil

Vous pouvez régler la fréquence de l'auto-test (durée env. 1 minute) avec la fonction **Device settings** (voir *Device settings à la page 74)*. L'**intervalle d'auto-test** est réglé en usine sur "hebdomadaire".

L'auto-test est consacré aux points suivants :

- Contrôle du détecteur
  - Détermination de l'erreur aléatoire sur tout le spectre disponible
- Contrôle de la source lumineuse
  - Contrôle de l'énergie de la source lumineuse maximum disponible et de la qualité de la transmission lumineuse dans l'appareil
  - Détermination de l'erreur aléatoire d'un signal sur le capteur de référence
  - Détermination de l'intensité du signal sur le capteur de référence
  - Détermination séparée de l'intensité lumineuse dans la plage UV
- Détermination de l'erreur aléatoire et systématique de la longueur d'onde
  - Position d'un pic d'intensité dans la plage UV du spectre
  - Précision de la position d'un pic d'intensité dans la plage UV du spectre
- Erreur aléatoire du capteur de température
- Contrôle du taux de variation de la température

▸ Dans le groupe **Device calibration**, sélectionnez la fonction **Perform selftest** et confirmez par **enter.**

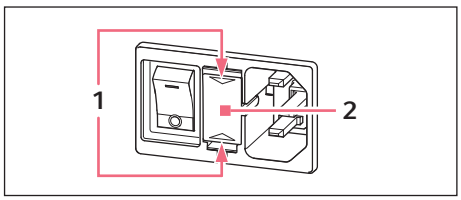
Après l'auto-test, le message **PASSED** apparaît sur l'affichage.
Si le message **FAILED** est affiché, cela signifie que l'auto-test n'a pas obtenu les résultats escomptés. Si l'erreur persiste, veuillez-vous adresser (voir *Messages d'erreur à la page 91)* au S.A.V Eppendorf.

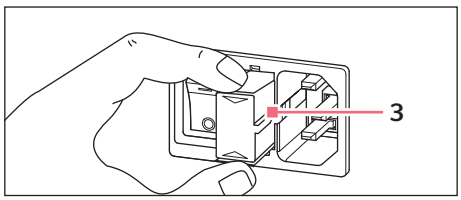
8.4 Changement de fusibles

DANGER ! Électrocution.

▸ Déclenchez l'appareil et sortez la fiche secteur avant de commencer les travaux d'entretien et de nettoyage.

Le porte-fusibles se trouve entre la prise de branchement au secteur et l'interrupteur général.





1. Débranchez la fiche secteur.
2. Pressez les ressorts en plastique **1** situés en haut et en bas et retirez entièrement le porte-fusibles **2**.
3. Remplacez les fusibles défectueux et replacez le porte-fusibles. Veillez à bien positionner le rail de guidage **3**.

8.5 Décontamination avant l'expédition

Veuillez tenir compte des informations suivantes si vous expédiez l'appareil pour réparation au service technique autorisé ou à votre distributeur agréé pour l'éliminer :

AVERTISSEMENT ! Dangers pour la santé à cause d'appareils contaminés.

1. Observez les spécifications du certificat de décontamination. Vous le trouverez en tant que fichier PDF sur notre site Internet (www.eppendorf.com/decontamination).
2. Décontaminez toutes les pièces que vous désirez expédier.
3. Complétez le certificat de décontamination et incluez-le dans votre envoi.

9 Résolution des problèmes

9.1 Pannes générales

Erreur	Origine	Dépannage
Les résultats des mesures sont imprécis.	• La date de péremption du réactif est dépassée.	▸ Vérifiez que la date de péremption du réactif n'est pas encore dépassée et qu'il est correctement préparé.
	• Réactif non préparé correctement.	▸ Utilisez pour la préparation, le cas échéant, de l'eau déminéralisée pure et de qualité suffisante.
	• Pipetage incorrect.	▸ Assurez-vous que la pipette est calibrée et fonctionne correctement.
	• Déroulement incorrect de l'incubation avant la mesure.	▸ Dans la mesure où l'application nécessite une incubation avant la mesure, assurez-vous que la température et le temps d'incubation sont bien respectés.
	• Cuve sale.	▸ Nettoyez et rincez la cuve. En cas d'échange de cuve, veillez à préserver la propreté de la fenêtre optique et à ne pas mettre vos doigts dessus. ▸ Lorsque la fenêtre de la cuve est salie par des traces de doigt, nettoyez-la avec un chiffon non pelucheux imbibé d'éthanol ou d'isopropanol.
	• Cuve pas remplie entièrement et la solution de mesure contient des bulles.	▸ Assurez-vous que le volume minimum requis dans la cuve pour une mesure est atteint, et que la solution de mesure est exempte de bulles.
	• Solution de mesure troublée.	▸ Centrifugez les solutions de mesure troubles, contenant des particules et utilisez la fraction surnageante claire.
	• Le spectrophotomètre dérive.	▸ Veuillez vous adresser au S.A.V. Eppendorf. ▸ Respectez les conditions d'environnement prescrites . ▸ Évitez les variations de température.
	• Puits de cuve encrassé.	▸ Nettoyez le puits de la cuve.

Erreur	Origine	Dépannage
Les résultats de la mesure sont incorrects.	• Méthode mal programmée.	▸ Vérifiez que les paramètres de la méthode ont été saisis correctement.
	• Solution étalon non préparée correctement.	▸ Assurez-vous que le bon standard est utilisé et que la solution de mesure pour le standard est préparée correctement.
	• L'absorbance du réactif dérive.	▸ En cas d'absorbance instable du réactif associée à des méthodes au point final : lors de la mesure d'une grande série d'échantillons, mesurez la valeur à blanc du réactif non seulement au début, mais aussi pendant la série. En cas de forte dérive de la valeur à blanc du réactif, le réactif n'est pas adapté à des mesures exemptes d'erreurs, il faut donc le remplacer par un nouveau réactif.
	• La cuve n'est pas positionnée correctement.	▸ Positionnez la cuve dans le puits de manière à orienter les fenêtres optiques dans le sens du faisceau lumineux. ▸ Faisceau lumineux photométrie : de l'arrière vers l'avant

9.2 Messages d'erreur

Vous pouvez faire disparaître les messages d'erreur s'affichant sur l'appareil avec la touche programmable [OK].

Les erreurs de système requièrent une évaluation par le service technique. Ces erreurs sont affichées en anglais **(System error ...)**. Dans ce cas, veuillez vous adresser au service technique. Les autres messages d'erreur auxquels vous pouvez remédier vous-même sont listés dans le tableau suivant.

Symptôme/ message	**Origine**	**Dépannage**
Échec de l'auto-test.	• Le couvercle du puits de la cuve était ouvert lors de l'auto-test. • Le puits de la cuve n'était pas vide lors de l'auto-test.	▸ Refaites l'auto-test avec un puits vide et un couvercle fermé.
	• L'appareil est défectueux.	▸ Veuillez vous adresser au S.A.V. Eppendorf.
Le fichier n'a pas pu être exporté.	Lors de l'exportation des données : • Clé USB mal formatée ou défectueuse. • Clé USB retirée trop tôt de l'appareil (pendant l'exportation).	▸ Reformatez la clé USB ou la remplacez. ▸ Reconnectez la clé USB et recommencez l'exportation.
L'imprimante n'a pas pu être réinitialisée.	• Imprimante non connectée ou éteinte. • Imprimante mal configurée.	▸ Branchez l'imprimante et allumez-la. ▸ Reconfigurez l'imprimante. Les réglages requis pour une bonne configuration de l'imprimante se trouvent dans le descriptif de l'installation (voir *Raccorder l'imprimante au port USB à la page 20)*.
Mesure du blanc : L'intensité d'un pixel ayant une influence sur une longueur d'onde de balayage ou sur une longueur d'onde principale ou secondaire est trop faible.	• La solution témoin utilisée pour la mesure du blanc a une extinction trop élevée. • Solution témoin erronée ou trouble. • Pour les balayages : plage de longueurs d'onde trop grande, car l'échantillon absorbe beaucoup de lumière sur une partie de la plage de longueurs d'onde.	▸ Contrôlez la solution témoin, le cas échéant, refaites la mesure du blanc. ▸ Pour les balayages : adaptez la plage de longueurs d'onde au spectre de l'échantillon.
Le nom saisi n'est pas valable.	• Erreur de saisie des noms. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide.	▸ Voir l'information de la fenêtre d'aide.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Il existe déjà une application (ou un dossier, colorant, protéine, acide nucléique, unité) portant ce nom.	• Le nom sous lequel est enregistrée l'application a déjà été utilisé pour une autre application du même dossier. • Le message apparaît également lorsque des noms déjà donnés ont été édités pour un dossier ou un (sous **General Method Parameter)** un acide nucléique (colorant, protéine, unité de concentration).	▸ Modifiez les noms.
Les valeurs de paramètres suivantes ne sont pas définies dans **General Method Parameter** :	• Lors de l'ouverture d'une application dont les paramètres sont issus de **General Method Parameter** , on a constaté qu'au moins un paramètre (colorant, acide nucléique, protéine, unité) n'existe plus, et a donc vraisemblablement été effacé.	▸ Sélectionnez un autre paramètre dans la liste existante. Si nécessaire, programmez dans **General Method Parameter** une nouvelle entrée pour pouvoir y accéder lors de la programmation d'une application.
La valeur du paramètre marqué ***** n'est pas défini dans Gen. Meth. méth. gén. Veuillez corriger le paramètre.	Ce message d'erreur s'affiche au moment de l'édition des paramètres de l'application. • Le paramètre n'est pas défini dans **General Method Parameter**.	▸ Sélectionnez un autre paramètre dans la liste existante. Si nécessaire, programmez dans **General Method Parameter** une nouvelle entrée pour pouvoir y accéder lors de la programmation d'une application.
Intervalle de zoom invalide.	En cas de zoom avec saisie libre des limites (touche programmable [Free]) : • Les valeurs seuils de la plage de zoom ont été dépassées.	▸ Entrez les valeurs de manière à ce que l'intervalle ne soit pas inférieur aux valeurs limites de 0,02 A et 10 nm.
Les concentrations étalons entrées n'ont pas une croissance ou une décroissance monotone. Corriger les concentrations standard.	• Voir texte d'erreur.	▸ Veuillez saisir les concentrations standards de telle manière à ce que le premier standard comprenne la concentration la plus faible, et que les autres concentrations standards forment une suite croissante.
Au moins deux concentrations étalons entrées sont identiques. Corriger les concentrations standard.	• Voir texte d'erreur.	▸ Veuillez saisir les concentrations standards de telle manière à ce que le premier standard comprenne la concentration la plus faible, et que les autres concentrations standards forment une suite croissante.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Mesures pas strictement monotones !	• Erreur lors de la mesure d'une série standard : Les valeurs d'absorbance mesurées pour la série standard ne forment pas une séquence homogène de valeurs croissantes ou décroissantes.	▸ Refaites les mesures standards ou effacez le résultat de mesure standard erroné.
L'ID ne peut pas être défini.	• Erreur à l'entrée de l'ID de l'échantillon. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide.	▸ Voir l'information de la fenêtre d'aide.
La dilution ne peut pas être définie.	• Erreur à l'entrée de la dilution. Différentes causes sont possibles. Pour connaître la raison concrète, observez l'information figurant dans la fenêtre d'aide.	▸ Voir l'information de la fenêtre d'aide.
Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Résultat d'absorbance ou formule du paramètre "b" égaux à zéro.	• Lors de l'évaluation d'une application de type **Division** (groupe d'applications **Dual wavelength)** , une division par un résultat d'absorbance de valeur "zéro" a dû être effectuée. C'est mathématiquement impossible.	▸ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure. ▸ N'attribuez pas la valeur "zéro" à la formule du paramètre **b**.
Seule une mesure peut encore être réalisée dans cette série de mesures. Le nombre maximum de mesures dans une série de mesures est atteint.	• Le nombre de mesures d'une série de mesures est limité à 99.	▸ Démarrez une nouvelle série de mesures au bout de 99 mesures maximum.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Intervalle de zoom invalide.	Erreur à l'étape **process results** de l'application en mode zoom. Plage de zoom autorisée pour l'échelle des longueurs d'onde : • Intervalle des longueurs d'onde d'au moins 10 nm • Saisie des longueurs d'onde uniquement dans la plage programmée pour l'application dans les paramètres. Plage de zoom autorisée pour l'échelle d'extinction : • Intervalle minimum d'absorbance 0,02 A • Limite supérieure et inférieure pour l'intervalle d'absorbances +3 A ou – 3 A	▸ Pendant le zoom, observez les limites mentionnées.
La configuration des appareils a été modifiée de … à … .	• Un BioSpectrometer kinetics n'est pas reconnu en tant que variante cinétique, mais reconnu en tant que BioSpectrometer basic. C'est pourquoi les applications cinétiques ne s'affichent pas.	▸ Éteignez puis rallumez l'appareil. Si l'erreur réapparaît : consultez le service après-vente.
Thermostatis. hors service. Veuillez programmer l'application sans thermostatisation ou bien interrompre l'application.	• La thermostatisation de l'appareil est défectueuse.	▸ Veuillez-vous adresser au S.A.V. Eppendorf. Tant que la thermostatisation n'est pas réparée, employez uniquement des applications pour lesquelles aucune thermostatisation n'est programmée.
La temp. ambiante est trop élevée.	Pour les applications cinétiques avec thermostatisation : • La température ambiante mesurée par l'appareil est supérieure à la plage spécifiée.	▸ Assurez-vous que la température ambiante se trouve dans la plage spécifiée pour le fonctionnement de l'appareil.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
La régression linéaire n'a pas pu être appliquée à toutes les mesures.	• Pour les applications cinétiques, à l'étape **process results** de l'application, l'intervalle de temps pour l'évaluation avec régression linéaire a été modifié et la modification doit être étendue à tous les résultats de mesure. Le nombre de points de mesure requis n'a pas été atteint pour au moins un résultat d'échantillon.	▸ A l'étape **process results** de l'application, modifiez l'intervalle de temps pour l'évaluation avec régression linéaire uniquement pour les échantillons pour lesquels on a un nombre suffisant de points de mesure.

9.3 Repérage des résultats

Les avertissements et messages d'erreur concernant les résultats s'affichent dans la fenêtre d'aide en bas à droite de l'affichage. En cas d'avertissement, la ligne d'en-tête de la fenêtre d'aide a un fond jaune, et en cas de message d'erreur, le fond est rouge.

Avertissements : à partir de l'avertissement affiché, déterminez si vous pouvez exploiter le résultat.

Messages d'erreur : Aucun résultat n'est affiché; des informations sont affichées à ce sujet dans le message d'erreur.

Symptôme/ message	**Origine**	**Dépannage**
La courbe standard n'est pas monotone. Veuillez sélectionner un autre Curve Fit.	• Lors de l'évaluation d'une courbe standard avec le procédé **Curve Fit** "rainure d'interpolation", "régression quadratique" ou "régression cubique", aucun résultat exploitable n'a été obtenu.	▸ Choisissez un autre procédé **Curve Fit**.
Certaines valeurs d'absorbance à des longueurs d'onde secondaire sont trop élevées et ne sont pas affichées.	• Pour au moins une longueur d'onde secondaire, l'extinction était au-dessus de la plage de mesure. • Des longueurs d'onde secondaire n'ont pas été intégrées au calcul du résultat de concentration mais utilisées à d'autres fins. Par ex. application **dsDNA:** absorbance à une longueur d'onde de 280 nm pour le calcul du rapport **260/280**. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique.	▸ Si les valeurs d'absorbance des longueurs d'onde secondaires sont importantes pour le calcul : diluez l'échantillon ou éliminez le trouble par centrifugation et refaites la mesure.
Le résultat se trouve en dehors de la plage des concentrations standards.	• Pour les applications avec évaluation des valeurs sur les courbes standards (procédé d'évaluation non linéaire) : le résultat de l'échantillon est de max. 5 % en dehors des plages de concentrations par défaut.	▸ Acceptez le résultat de la mesure ou remesurez l'échantillon dans des conditions dans lesquelles les concentrations standards se trouvent dans la plage (diluez l'échantillon ou modifiez les concentrations standards et remesurer).

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Le coefficient de détermination est < 0,8.	• Pour les applications avec évaluation des séries standards d'après le procédé de régression : le coefficient de détermination de la régression signale un net écart des points de mesure par rapport à la droite de régression. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique.	▸ Acceptez le résultat de l'évaluation standard ou remesurez les standards. ▸ Les solutions de mesure doivent être claires.
Le coefficient de détermination nécessaire à l'évaluation de l'analyse de régression de la série étalon est < 0,8.	• Pour les applications d'évaluation des séries standards basées sur le procédé de régression : un avertissement apparaît après la mesure des échantillons si les résultats de la série standard n'étaient pas linéaires mais si l'évaluation standard a été acceptée par l'utilisateur.	▸ Utilisez les résultats des échantillons sous la réserve mentionnée ou remesurez la série standard et les échantillons.
Balayage : certaines extinctions mesurées sont trop élevées et ne sont pas affichées.	• Pour au moins une longueur d'onde secondaire du balayage, l'extinction était au-dessus de la plage de mesure. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique.	▸ Si les parties du balayage non affichées sont importantes : diluez l'échantillon ou éliminez le trouble par centrifugation et refaites la mesure.
Mesure incomplète.	• Procédé cinétique : Vous avez abandonné la mesure à l'aide de la touche programmable [Stop]. Lorsque l'on a au moins 2 points de mesure, un résultat est calculé et affiché.	▸ Acceptez le résultat de la mesure avec durée de mesure réduite ou remesurez avec une durée de mesure plus longue.
La cinétique n'est pas linéaire : le coefficient de détermination est <0,95.	• Mesure cinétique avec procédé de "Régression linéaire " : le coefficient de détermination de l'évaluation de la régression indique un net écart des points de mesure par rapport à la droite de régression. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique. • Concentration d'activité de l'enzyme trop élevée.	▸ Acceptez le résultat de la mesure ou remesurez l'échantillon. Avant la nouvelle mesure, évaluez et prenez en compte la cause de la non-linéarité (p.ex. clarifiez la solution de mesure en réalisant une centrifugation ou diluez l'échantillon).

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
La cinétique n'est pas linéaire pour au moins un standard : Le coefficient de détermination est <0,95.	• Procédé cinétique avec mesure "Régression linéaire" et application d'évaluation via standards : Le coefficient de détermination de la régression utilisé pour au moins une mesure standard signale un net écart des points de mesure par rapport à la droite de régression. • Solution de mesure troublée. • Mesures aux limites de la plage de mesure photométrique. • Concentration d'activité de l'enzyme trop élevée.	▸ Acceptez le résultat de la mesure ou remesurez le standard. Avant la nouvelle mesure, évaluez et prenez en compte la cause de la non-linéarité (p.ex. clarifier la solution de mesure en réalisant une centrifugation ou utilisez un standard ayant une concentration plus faible).
Pendant la mesure cinétique, la température se trouvait en dehors de la plage autorisée.	• Température ambiante en dehors de la plage spécifiée. • Thermostatisation défectueuse.	▸ Mesurez l'échantillon à température ambiante dans la plage spécifiée (15 °C à 35 °C). Si l'avertissement s'affiche quand même, prière de s'adresser au S.A.V. Eppendorf.
Extinction trop élevée à la longueur d'onde de mesure.	• Solution de mesure troublée. • Surfaces optiques de la cuve poussiéreuses. • Cuve mal positionnée dans le puits. • Extinction trop élevée de la solution de mesure.	▸ Remesurez en prenant en compte les origines.
Le résultat calculé est négatif.	• La solution de mesure est mal positionnée. • Le facteur a été mal saisi (signe erroné).	▸ Remesurez en prenant en compte les origines.
Au moins un des résultats est négatif.	• Pour les applications avec plusieurs résultats (par ex. **Dye labels**). • La solution de mesure est mal positionnée. • Le facteur a été mal saisi (signe erroné).	▸ Remesurez en prenant en compte les origines.
Le résultat comporte 6 emplacements avant la virgule.	• Concentration de l'échantillon très élevée. • L'unité de concentration ne correspond pas à la plage attendue des concentrations de l'échantillon.	▸ Diluez l'échantillon et refaire la mesure. ▸ Modifiez l'unité de concentration (paramètre **Unit**) et remesurez.

Symptôme/ message	Origine	Dépannage
Le résultat se trouve à plus de 5 % en dehors de la plage des concentrations standards.	• Pour les applications avec évaluation des courbes standards (procédé d'évaluation non-linéaire) : Le résultat de l'échantillon se trouve à plus de 5 % en dehors de la plage des concentrations standards.	▸ Remesurez l'échantillon dans des conditions dans lesquelles le résultat se trouve dans la plage des concentrations standards (diluez l'échantillon ou modifiez les concentrations standards et remesurer).
• Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Le résultat d'absorbance est égal à zéro. • Erreur lors du calcul. Division par zéro.	• Lors de l'évaluation, le résultat d'absorbance a dû être divisé par "zéro". C'est mathématiquement impossible. Exemples : calcul d'un facteur pour le dosage direct à un point ; calcul d'un rapport 260/280 pour les mesures d'acide nucléique.	▸ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure.
Calcul impossible, car il s'agit d'une division par zéro. Résultat d'absorbance ou formule du paramètre **b** égaux à zéro.	• Lors de l'évaluation d'une application de type **Division** (groupe d'applications **Dual wavelength)** , une division par un résultat d'absorbance de valeur "zéro" a dû être effectuée. C'est mathématiquement impossible.	▸ Contrôlez les réactifs et les échantillons utilisés et refaites la mesure. ▸ N'attribuez pas la valeur "zéro" à la formule du paramètre **b**.

10 Transport, stockage et mise au rebut

10.1 Transport

- Utiliser l'emballage d'origine pour le transport.

	Température de l'air	**Humidité relative de l'air**	**Pression atmosphérique**
Transport général	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Fret aérien	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

10.2 Stockage

	Température de l'air	**Humidité relative de l'air**	**Pression atmosphérique**
dans l'emballage de transport	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
sans emballage de transport	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

10.3 Mise au rebut

Si le produit doit être éliminé, observer les règles applicables dans l'Union Européenne.

Informations sur la mise au rebut des appareils électriques et électroniques :

Au sein de l'Union Européenne, l'élimination des appareils électriques est régie par les lois nationales basées sur la Directive Européenne 2012/19/EU relatives aux déchets d'équipements électriques et électroniques (WEEE).

Selon ces règles, certains appareils vendus après le 13 août 2005 en B2B seulement ne peuvent plus être éliminés avec les ordures ménagères ni ramassés avec les encombrants. Cela est indiqué par l'identifiant suivant :

Comme les règles de mise au rebut peuvent différer d'un pays à l'autre dans l'UE, veuillez contacter le cas échéant votre fournisseur.

11 Données techniques

11.1 Alimentation électrique

Tension d'alimentation	100 V à 240 V ±10 %, 50 Hz à 60 Hz
Catégorie de surtension	II
Degré de contamination	2
Puissance absorbée	Puissance maximum susceptible d'apparaître, selon plaque d'identification : 50 W Env. 30 W pendant l'exploitation Env. 5 W avec affichage dimmé et thermostatisation arrêtée
Coupure secteur admissible	Env. 10 ms à 90 V Env. 20 ms à 230 V
Classe de protection	I
Fusibles	T 2,5 A/250 V, 5 mm × 20 mm(2 pces)

11.2 Conditions ambiantes

Fonctionnement	Température ambiante : 15 °C à 35 °C Humidité rel. de l'air : 25 % à 70 % Pression atmosphérique : 86 kPa à 106 kPa
Pression atmosphérique	Peut être utilisé jusqu'à une altitude de 2000 m au-dessus du niveau de la mer

Protéger des rayons directs du soleil.

11.3 Poids/dimensions

Poids	5,3 kg
Dimensions	Largeur : 295 mm Profondeur : 400 mm Hauteur : 150 mm
Encombrement	Largeur : 500 mm (avec thermo-imprimante : 750 mm) Profondeur : 500 mm

11.4 Propriétés photométriques

Principe de la mesure	Spectrophotomètre d'absorption mono-rayon avec faisceau de référence
Source lumineuse	Lampe flash au xénon
Décomposition spectrale	Grille holographique concave avec correction des aberrations
Récepteur du rayonnement	Rangée de photodiodes CMOS
Longueurs d'onde	200 nm à 830 nm
Sélection de la longueur d'onde	Librement configurable suivant la méthode utilisée
Largeur de bande passante spectrale	≤ 4 nm
Incrément minimum	1 nm
Erreur systématique de la longueur d'onde	±1 nm
Erreur aléatoire de la longueur d'onde	≤ 0,5 nm
Plage de mesure photométrique	0 A à 3,0 A pour 260 nm
Exactitude de la lecture	ΔA = 0,001
Erreur aléatoire du photomètre	≤ 0,002 pour A = 0 ≤ 0,005 (0,5 %) pour A = 1
Erreur systématique du photomètre	±1 % pour A = 1
Lumière parasite	< 0,05 %

11.5 Thermostatisation

Plage de températures réglable	20 °C à 42 °C
Plus petit pas d'incrémentation	0,1 °C
Incertitude maximale de température (en fonction de la température dans l'échantillon)	(voir Tab. à la page 32)
Erreur systématique de température	±0,2 à 25 °C jusqu'à 37 °C
Erreur aléatoire de température	±0,15 à 25 °C jusqu'à 37 °C

11.6 Paramètres techniques supplémentaires

Matériau de la cuve	Pour les mesures UV : Verre de quartz ou plastique transparent aux UV (UVette d'Eppendorf, 220 nm à 1600 nm) Pour les mesures effectuées dans la gamme visible : Verre ou plastique
Puits de cuve	12,5 mm × 12,5 mm, avec thermostatisation
Hauteur totale des cuves	Min. 36 mm
Hauteur du faisceau lumineux dans la cuve	8,5 mm
Clavier	22 touches tactiles 6 touches tactiles programmables
Publication du résultat	Absorbance, concentration, balayage (spectre de longueurs d'onde d'absorbance) Données complémentaires suivant la méthode utilisée (rapport, FOI, absorbances d'arrière-plan)
Ecran	Écran TFT VGA 5,7”
Langues proposées	Anglais, français, espagnol, italien, allemand
Interfaces	USB maître : pour clé USB et thermo-imprimante DPU-S445 USB esclave : pour connexion à un PC Interface série RS 232 : pour thermo-imprimante DPU-414 Interface Ethernet RJ45 : pour la connexion à un réseau Les appareils connectés doivent être conformes aux exigences de sécurité de la directive CEI 60950-1.

11.7 Paramètres d'application

Méthodes	Méthodes pré-programmées et méthodes programmables pour tous les procédés d'évaluation et de mesure : • Mesures de l'absorbance à une ou plusieurs longueurs d'onde, balayages • Acides nucléiques et protéines, OD600, méthodes avec colorant (mesure parallèle de la biomolécule et du marquage de colorant) • Méthodes d'évaluation avec facteur, standard et série standard • Procédé de mesure à deux longueurs d'onde avec évaluation par soustraction et division • Procédé avec vitesses : point final, deux points, régression linéaire
Évaluation en fonction de la méthode appliquée	Absorbance, concentration avec facteur et standard. Concentration avec série standard : • Pour les procédés cinétiques évalués à l'aide du procédé "Régression linéaire", vous pouvez définir ultérieurement les débuts et les fins de l'évaluation par régression dans l'étape process results. • Régression non linéaire (polynôme de 2ème et 3ème degré) • Évaluation avec rainure d'interpolation • Interpolation linéaire (évaluation point-à-point) Calculs de l'absorbance via soustraction et division Données complémentaires pour acides nucléiques : rapport 260/280 et 260/230; concentration molaire, rendement total Données complémentaires pour méthodes avec colorants : FOI (Frequency of incorporation, densité de marquage) Balayages : zoom, évaluation des pics Vitesses : modification ultérieure de l'intervalle de temps pour l'évaluation par régression
Mémoire de méthode	> 100 programmes de méthode
Mémoire des mesures et mémoire de la gamme étalon	Mémoire capable de contenir > 1 000 résultats avec toutes les données d'évaluation des résultats et standards, numéro d'échantillon, nom d'échantillon, date et kit de paramètres utilisé dans le programme de méthodes (Le nombre de résultats enregistrés est fonction du nombre de méthodes enregistrées.)

12 Procédés d'évaluation

Ce chapitre est consacré aux procédés d'évaluation proposés dans les programmes de méthodes ainsi qu'au calcul d'une dilution, qui sera effectuée par le logiciel de l'appareil.

Lors de la comparaison des résultats obtenus ici avec ceux d'autres photomètres/ spectrophotomètres, n'oubliez pas que les valeurs risquent de varier suivant la largeur de bande des appareils. Ces écarts risquent d'être particulièrement élevés dans les cas suivants :

- Le spectre d'absorbance présente un pic étroit dans la longueur d'onde de mesure.
- La mesure n'est pas réalisée au maximum mais sur le flanc d'un pic.

C'est pourquoi, vérifiez que la méthode est correcte en mesurant des étalons.

12.1 Valeurs d'absorbance

Les valeurs de l'absorbance sont représentées comme A_{XXX} (XXX étant la longueur d'onde). Ces affichages correspondent toujours aux valeurs mesurées directement, c'est-à-dire sans correction, pour être ensuite prises en compte dans l'évaluation, comme par ex. les corrections des trajets optiques de la cuve ou les corrections d'arrière-plan.

12.1.1 Blanc

Les valeurs de l'absorbance se rapportent toujours à la dernière valeur à blanc mesurée. C'est pourquoi, la valeur à blanc sera mesurée obligatoirement au début de chaque série et à un moment quelconque de la série de mesures. Dans le cas idéal, la mesure à blanc devrait pouvoir compenser tous les effets susceptibles d'influencer l'absorbance d'une solution de mesure. C'est pourquoi, la valeur à blanc devrait être mesurée avec le tampon utilisé pour mesurer l'échantillon et dans la même cuve que celle utilisée pour déterminer la valeur de l'échantillon – sauf si les cuves utilisées pour la mesure de la valeur à blanc et de l'échantillon ont fait l'objet d'une compensation optique, c'est-à-dire si elles ont la même absorbance à la longueur d'onde de mesure.

12.1.2 Correction d'arrière-plan

Application principale : correction partielle des altérations de l'absorbance lors des mesures de l'acide nucléique, causées par des turbidités dans la solution de mesure. Par exemple, l'absorbance mesurée à 320 nm, qui devrait être de l'ordre d'env. 0 A pour les acides nucléiques purs, sera soustraite de l'absorbance mesurée à 260 nm, la longueur d'onde de mesure des acides nucléiques.

$$A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$$

$A_{XXX,\ corrArPlan}$ = absorbance corrigée par calcul à la longueur d'onde XXX nm.

A_{XXX} = absorbance mesurée à la longueur d'onde XXX nm.

A_{ArPlan} = absorbance mesurée à la longueur d'onde d'arrière-plan.

12.1.3 Correction de la cuve

Les valeurs de l'absorbance prises en compte dans les calculs des résultats, sont normalisées sur une cuve présentant un trajet optique de 10 mm. Si une cuve est utilisée avec un autre trajet optique, ce dernier devra être défini dans le paramètre **Cuvette**. Les absorbances mesurées seront alors corrigées avant la conversion des échantillons pour obtenir des résultats avec une cuve présentant un trajet optique de 10 mm.

Cette correction s'applique aux :
- méthodes d'évaluation avec facteur.
- méthodes du groupe ***Absorbance***, avec l'édition limitée aux valeurs d'absorbance.

La correction ne s'applique pas aux :
- méthodes d'évaluation avec standards car on suppose que les standards et les échantillons sont mesurés dans des cuves présentant le même trajet optique.
- calculs avec division : méthode **Division** (groupe de méthodes **Dual wavelength**) et calcul des rapports comme A_{260}/A_{280} (pour les mesures d'acide nucléique).

$$A_{XXX,corrCuv} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

$A_{XXX,\ corrCuv}$ = absorbance corrigée mathématiquement à la longueur d'onde XXX nm.

A_{XXX} = absorbance mesurée à la longueur d'onde XXX nm.

Cuv = trajet optique de la cuve.

12.2 Évaluation avec facteur ou standard

$$C = A \times F$$

C = concentration calculée.

A = absorbance.

F = facteur.

Le facteur est programmé dans la liste de paramètres et peut être modifié. Il se rapporte toujours au trajet optique de 10 mm. Si vous modifiez le paramètre **Cuvette**, l'appareil tiendra compte de la modification lors du calcul du résultat. Vous ne devez donc pas modifier le facteur pour effectuer l'évaluation.

Si vous modifiez l'unité de la concentration, vous devrez veiller à ce que le facteur soit adapté à l'unité choisie.

Le facteur est soit saisi directement comme paramètre dans le procédé d'évaluation "Factor" soit calculé dans le procédé "Standard" (évaluation avec une concentration standard) :

$$F = \frac{C_S}{A_S}$$

F = facteur calculé.

C_S = concentration du standard (saisie sous forme de paramètre).

A_S = absorbance mesurée pour le standard.

Si vous avez programmé une mesure multiple pour l'évaluation avec standard (2 ou 3 réplicats), la valeur médiane sera formée à partir des absorbances des réplicats et définie comme A_S.

12.3 Évaluation avec courbe / droite de standards

Si vous faites les évaluations avec plus d'un standard, utilisez [Curve fit] dans l'étape **measure standards/ new** pour sélectionner les procédés d'évaluation suivants de la courbe/droite de standards :

Procédé d'évaluation	Description	Nombre minimum de points standards
linear interpolation	Liaison point-à-point linéaire du graphique absorbance-concentration utilisé pour l'évaluation standard.	Au moins 2 standards.
Uniquement pour le procédé "linear regression" : graphique avec affichage de l'absorbance-temps et droite de régression enregistrée.	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de premier degré.	Au moins 3 standards.
quadratical regression	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de deuxième degré.	Au moins 4 standards.
cubical regression	Régression polynomiale utilisée pour un polynôme de troisième degré.	Au moins 5 standards.
spline interpolation	Interpolation réalisée avec des splines cubiques naturelles.	Au moins 3 standards.

Pour le procédé de régression, vous pouvez également faire passer la droite de régression (courbe de régression) par le point zéro.

- Pour les droites de calibrage, utilisez le procédé "linear regression".
- Pour les courbes, testez le procédé d'évaluation (régression carrée, régression cubique, rainure d'interpolation) qui permet d'obtenir la fonction la mieux adaptée à l'évaluation standard. La rainure d'interpolation relie les points de mesure par des polynômes cubiques alors que les procédés d'évaluation par régression placent une fonction carrée ou cubique entre les points de mesure de manière à obtenir des écarts minimum par rapport à la fonction.
- Les procédés d'évaluation par régression utilisent, outre l'équation de régression, le coefficient de détermination (coefficient of determination) afin de définir la dispersion des points de mesure autour de la fonction calculée. À une valeur < 0,8 du coefficient de détermination, le résultat est accompagné d'un avertissement.
- Si le premier standard a la concentration "0", sélectionnez le réglage permettant de faire passer la droite de régression (courbe de régression) par le point zéro.
- Si aucun des procédés recommandés pour les courbes ne donne de résultats corrects, sélectionnez le procédé "linear interpolation".

12.4 Dilution

Les dilutions indiquées dans l'étape **measure samples** sont prises en compte dans le calcul des résultats :

$$C_{Dil,korr} = C \times \frac{V_P + V_{Dil}}{V_P}$$

$C_{dil,\ corr}$ = résultat converti à l'aide du facteur de dilution

V_P = volume de l'échantillon contenu dans la solution de mesure

V_{dil} = volume de diluant contenu dans la solution de mesure

12.5 Procédés d'évaluation spéciaux pour acides nucléiques et protéine UV

Ce chapitre est consacré à l'évaluation des acides nucléiques et/ou protéines contenues dans les groupes **Nucleic acids** et **Proteins direct UV** ainsi que des composants de la biomolécule correspondants du groupe **Dye labels**.

12.5.1 Correction A_{260} et correction A_{280}

Application : correction de l'influence de l'absorbance du colorant sur l'absorbance de l'acide nucléique et/ou des protéines à 260 et 280 nm, dans les méthodes du groupe **Dye labels**.

L'application du procédé d'évaluation peut être activée dans les paramètres **Correct A260** et **Correct A280**.

$$A_{XXX,corr} = A_{XXX} - CF \times A_{YYY}$$

$A_{XXX,\ corr}$ = absorbance corrigée par calcul, à la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm

A_{XXX} = absorbance mesurée à la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm

CF = facteur de correction pour la longueur d'onde de 260 nm ou 280 nm (les deux facteurs de correction utilisées à 260 nm et 280 nm sont spécifiques à un colorant et sont programmés dans **General Method Parameter: Dyes** dans la partie **Functions**).

A_{YYY} = absorbance mesurée à la longueur d'onde du colorant.

Les valeurs d'absorbance représentées dans les affichages des résultats sont les valeurs d'absorbance mesurées directement, sans correction.

12.5.2 Rapport A260/A280 et rapport A260/A230

Application : informations sur la pureté de l'acide nucléique mesurée. L'application du procédé d'évaluation peut être activée dans les paramètres **A260/280** et/ou **A260/A230**.

"Ratio" désigne le quotient des absorbances mesurées aux longueurs d'onde désignées.

Valeurs indiquées dans la littérature pour les rapports définis avec des acides nucléiques purs :

A260/A280
- ADN : 1,8 à 1,9
- ARN : 1,9 à 2,0
  (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Informations complémentaires sur la pureté des substances mesurées : rapport A260/A230 et rapport A260/A230 (valeurs du rapport limitées aux acides nucléiques), spectre de longueurs d'onde d'absorbance.

Pour le rapport A260/A230, on trouve différentes valeurs d'acide nucléique purs dans la littérature :
- ADN : 2,3 à 2,5
  (The Nucleic Acids, 1955)
- ADN : 1,9
  (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Les valeurs varient fortement suivant le pH. C'est pourquoi, les acides nucléiques ne devraient pas être mesurés dans l'eau, mais dans un tampon à un pH compris entre 7 et 7,2 (par ex. tampon TE).

12.5.3 Conversion en concentrations molaires et quantités d'acides nucléiques

La conversion ne peut être appliquée qu'aux acides nucléiques et aux méthodes avec colorant et acides nucléiques comme composant de la biomolécule. Elle a lieu dans l'étape **process results/More calculations**.

12.5.3.1 Calcul de la quantité

Application : calcul de la quantité (masse) d'acide nucléique dans le volume d'échantillon total.

$$M = C \times V_{P,gesamt}$$

M = quantité totale calculée (masse) d'acide nucléique dans le récipient de réaction. Unité : µg.

C = concentration d'acide nucléique calculée à partir de la mesure. Unité : µg/mL ou ng/µL.

$V_{P,\ total}$ = volume total d'échantillon contenu dans le récipient de réaction. Entrez cette valeur dans **More calculations**. Unité : µL.

12.5.3.2 Calcul de la concentration molaire

Application : calcul de la concentration molaire d'acide nucléique à partir de la concentration de masse et la masse molaire relative. La masse molaire est entrée soit directement, soit calculée par l'appareil à partir du nombre de bases ou de paires de bases calculé par molécule d'acide nucléique.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

C_{mol} = concentration molaire d'acide nucléique calculée. Unité : pmol/mL.

C = concentration molaire d'acide nucléique calculée à partir de la mesure. Unité : µg/mL ou ng/µL.

MM = masse molaire relative. Unité : kDa

Si vous avez entré le nombre de bases ou de paires de bases par molécule d'acide nucléique au lieu de la masse molaire relative dans **More calculations**, MM est sera calculé à partir du nombre de bases ou paires de bases :

Pour **dsDNA :**

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Pour **ssDNA, RNA, Oligo :**

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = masse molaire relative calculée ; unité : kDa

bp = nombre de paires de bases saisi par molécule

b = nombre de bases saisi par molécule

- Pour **dsDNA**, la concentration molaire est calculée avec une acide nucléique à double brin. Pour les méthodes **ssDNA**, **RNA** et **Oligo**, on supposera une acide nucléique à simple brin.
- Pour les méthodes qui ont été reprogrammées dans le groupe principal ***Routine***, groupe **Nucleic acids** via **<New Method>**, la concentration molaire sera toujours calculée à partir d'acides nucléiques à double brin.

12.5.4 Calcul du facteur pour la protéine dans "General Method Parameter"

Cette section ne s'applique qu'au calcul du composant de la protéine dans les groupes **Dye labels** et **Proteins direct UV.** Ici, le composant de la protéine est sélectionné dans les paramètres (voir *Paramètres des méthodes à la page 40)*. Le composant de la protéine est lié à un facteur qui est saisi dans la fonction **General Method Parameter/Proteins** pour chaque protéine. Au lieu du facteur, vous pouvez également saisir soit $A_{0,1\%}$ soit le coefficient d'absorbance plus la masse molaire de la protéine. Dans ce cas, le facteur sera calculé comme suit :

$$F_P = \frac{1}{A_{0.1\%}}$$

F = facteur de la protéine ; unité: g/L.

$A_{0,1\%}$ = absorbance de la protéine à une concentration de 0,1 % (1 g/L).

Le coefficient d'absorbance molaire et la masse molaire relative de la protéine serviront au calcul de, $A_{0,1\%}$:

$$A_{0.1\%} = \frac{\varepsilon_P}{MM_P}$$

ε_P = coefficient d'absorbance molaire de la protéine ; unité : $cm^{-1}M^{-1}$.

MM_P = masse molaire relative de la protéine ; unité : Da (saisie dans **General Method Parameter** en kDa).

12.6 Procédures d'évaluation spéciales pour méthodes Dye

12.6.1 Calcul du facteur pour le colorant du coefficient d'extinction

Pour les méthodes Dye, la concentration du colorant est calculée avec un facteur issu de l'extinction mesurée (voir *Évaluation avec facteur ou standard à la page 109)*. Le facteur est saisi pour chaque colorant dans la fonction **General Method Parameter/Dyes**. Au lieu de saisir le facteur, il est possible de saisir le coefficient d'extinction. Dans ce cas, le facteur est calculé de la manière suivante :

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

F = facteur pour le colorant ; unité : pmol/µL.

ε = coefficient d'extinction pour le colorant ; unité : $cm^{-1}Mol^{-1}L$.

12.6.2 Calcul de la FOI

Dans les méthodes Dye, la fréquence d'incorporation (FOI = Frequency of Incorporation) est calculée et affichée comme valeur du rapport entre les molécules de colorant et la quantité de nucléotides dans l'acide nucléique. Le calcul peut être sélectionné pour deux unités de résultats différentes :

Unité MOLÉCULE dye/kb

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

Unité pmol/µg ADN (ou ARN)

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

A_{YYY} = extinction du colorant.

A_{XXX} = extinction de l'acide nucléique.

MM_{nt} = masse molaire moyenne du nucléotide : 330 g/mol.

F_{NA} = facteur de calcul de l'acide nucléique

ε_{Dye} = coefficient d'extinction pour le colorant ; unité : $cm^{-1}M^{-1}$

12.6.3 Calcul des quantités de colorant

Le calcul de la quantité (masse) de colorant dans le volume total de l'échantillon est effectué à l'étape **process results/More calculations** de la méthode.

$$M = C \times V_{P,total}$$

M = quantité totale calculée (masse) du colorant dans le récipient de réaction. Unité : pmol.

C = concentration du colorant calculée à partir de la mesure. Unité : pmol/µL.

$V_{P,\ gesamt}$ = volume total de l'échantillon dans le récipient de réaction ; saisi par l'utilisateur dans **More calculations**. Unité : µL.

12.7 Dual wavelength

Pour les méthodes du groupe **Dual Wavelength**, les extinctions qui ont été mesurées sur deux longueurs d'onde peuvent être déduites l'une de l'autre avant que l'extinction calculée ne soit intégrée à l'évaluation ultérieure avec facteur ou standard.

Pour déterminer l'extinction calculée, on peut définir dans les paramètres une évaluation par division ou par soustraction :

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

$$A_{calc} = \left[\left(a \times A_1\right) - \left(b \times A_2\right)\right] \times c + d$$

A_1, A_2 = extinctions mesurées.

a, b, c, d = facteurs saisis dans les paramètres. Il est également possible de saisir des valeurs négatives.

12.8 Cinétique

Les procédures de mesure disponibles permettent de calculer soit une valeur d'absorbance**A** soit une différence d'absorbance par minute **ΔA/min**. Cette valeur d'absorbance calculée est prise en compte dans le calcul de la concentration (par le biais d'un facteur) ou par le biais d'un étalonnage standard à un point (uniquement pour **Advanced kinetics**).

12.8.1 Procédure de mesure

Endpoint

Une valeur d'extinction est mesurée à la fin du temps d'attente **(temps d'incubation,** paramètre **Delay)** et utilisée pour le calcul de la concentration.

Two point

Un premier point de mesure est réalisé après écoulement du délai, suivi d'un deuxième point de mesure après écoulement du temps de mesure. La valeur de ΔA/min est calculée à partir de la différence de l'absorbance et du temps :

$$\frac{\Delta A}{\min} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1}$$

A_1, t_1 = absorbance et temps du premier point de mesure.

A_2, t_2 = absorbance et temps du deuxième point de mesure.

Linear regression

Dès que le délai est écoulé, des points de mesure sont enregistrés à intervalles réguliers tout au long de la durée de mesure. Une régression linéaire est représentée dans le diagramme absorbance-temps à l'aide des points de mesure. Résultat : valeur d'extinction en ΔA/min.

12.8.2 Valeur témoin du réactif

Il est possible de programmer la mesure d'une valeur témoin de réactif dans les paramètres parmi les méthodes du groupe **Advanced kinetics**. Application primaire: compensation d'une dérive du réactif au cours de la procédure de mesure "Régression linéaire". La valeur témoin du réactif contient le réactif et de l'eau déminéralisée à la place de l'échantillon et cette valeur est mesurée grâce à la même procédure de mesure que celle utilisée pour l'échantillon. Cette valeur témoin est mesurée au début de la série d'échantillon; le résultat d'absorbance est obtenu par soustraction de l'échantillon avant exploitation :

$$A_{RB,corr} = A - A_{RB}$$

$A_{RB,\ corr}$ = résultat d'absorbance corrigé (en A ou ΔA/min) de l'échantillon.

A = résultat d'absorbance mesuré (en A ou ΔA/min) de l'échantillon.

A_{RB} = résultat d'absorbance (en A ou ΔA/min) de la valeur témoin du réactif.

Si au cours de la première étape de la méthode **process results** l'intervalle de temps pour l'exploitation cinétique par régression linéaire est raccourci, alors l'intervalle de mesure le plus court sera aussi utilisé automatiquement pour le calcul de la valeur témoin du réactif, qui est intégré dans le calcul de ce résultat d'échantillon. La valeur témoin du réactif est (uniquement) calculée pour le calcul de ce résultat d'échantillon ce qui signifie qu'elle est recalculée encore une fois. Le résultat de la valeur témoin du réactif est en outre utilisé pour le calcul des autres résultats de mesure ; ce résultat de mesure étant calculé sur la base de l'intervalle de temps utilisé au départ.

La mesure d'une valeur témoin du réactif n'est pas disponible lors de l'exploitation de la méthode cinétique à l'aide d'échantillons standard. Dans ce cas précis la valeur témoin du réactif peut alors être définie comme étant la première solution standard (concentration "nulle").

13 Nomenclature de commande

Ref. (International)	Ref. (Amérique du Nord)	Description
		Eppendorf BioSpectrometer basic
6135 000.009	–	230 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Europe
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Amérique du Nord
		Eppendorf BioSpectrometer kinetic
6136 000.002	–	230 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Europe
6136 000.010	6136000010	120 V/50 – 60 Hz, Prise secteur Amérique du Nord
		Ensemble de filtres référence pour BioSpectrometer
6135 928.001	6135928001	kit de filtres pour la vérification de l'exactitude photométrique et des erreurs systématiques de longueur d'onde (selon le NIST)
		Eppendorf µCuvette G1.0
6138 000.018	6138000018	Cellule de mesure de microvolumes Eppendorf pour l'Eppendorf BioPhotometer et BioSpectrometer
		Thermal Printer DPU-S445
		avec câble d'alimentation et câble d'imprimante
6135 011.000		230 V, EU
6135 010.004	6135010004	115 V/110V, USA, JP
6135 012.007		230 V, UK
		Papier thermique
0013 021.566	952010409	5 rouleaux
		Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm
		Original Eppendorf cuvette en plastique, PCR clean, Protein-free
0030 106.300	952010051	50 - 2 000 µL, 80 pièces, emballées individuellement
		Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm
		Eppendorf Quality
0030 106.318	952010069	50 - 2 000 µL, 200 pieces, boîte refermable
		Eppendorf macro Vis Cuvettes
0030 079.345	0030079345	10 × 100 pièces
		Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes
0030 079.353	0030079353	10 × 100 pièces
		Support de cuve
4308 078.006	940001102	pour 16 cuves d'électroporation

EG-Konformitätserklärung
EC Conformity Declaration

Das bezeichnete Produkt entspricht den einschlägigen grundlegenden Anforderungen der aufgeführten EG-Richtlinien und Normen. Bei einer nicht mit uns abgestimmten Änderung des Produktes oder einer nicht bestimmungsgemäßen Anwendung verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

The product named below fulfills the relevant fundamental requirements of the EC directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

Produktbezeichnung, Product name:

Eppendorf BioSpectrometer® kinetic

Produkttyp, Product type:

Photometer

Einschlägige EG-Richtlinien/Normen, Relevant EC directives/standards:

2006/95/EG; EN 61010-1

2004/108/EG; EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU

Vorstand, Board of Management:

Projektmanagement, Project Management:

07.08.2013

Hamburg, Date:

ISO CERTIFIED 9001

eppendorf

Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22339 Hamburg · Germany

Evaluate Your Manual

Give us your feedback.
www.eppendorf.com/manualfeedback

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com · www.eppendorf.com